

E.N.S.H. VERSAILLES  
Secteur d'enseignement et de recherche  
Protection des Plantes

C.I.R.A.D. / I.R.F.A.  
Service Nématologie/  
Entomologie

---

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE D'HORTICULTURE

---

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

présenté par

Eric MARGUERITTE

en vue de l'obtention du diplôme d'

INGENIEUR E.N.S.H. Protection des Plantes

---

CONTRIBUTION A LA MISE AU POINT D'UN TEST DE CRIBLAGE  
VARIÉTAL PRÉCOCE DE L'ANANAS A L'ÉGARD DE  
*Pratylenchus brachyurus* (GODFREY) (NEMATODA-PRATYLENCHIDAE)

---

Mémoire soutenu à VERSAILLES le 4 Octobre 1991

JURY :

Président : Mr RIVOAL (I.N.R.A.)

Examineurs : Mr SARAH (I.R.F.A.)  
Mme DECHARME (E.N.S.H.)  
Mr JAUZEIN (E.N.S.H.)  
Mr ROBERT (E.N.S.H.)

---

Stage réalisé au centre du C.I.R.A.D. / I.R.F.A. de MONTPELLIER

## RESUME

Les expériences ont eu pour objectif d'améliorer un test de criblage variétal précoce de l'ananas à l'égard de *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) (Nematoda-Pratylenchidae), et de préciser les modalités d'élevage de ce dernier sur disques de carottes et racines excisées de maïs.

Les plants provenant de culture *in vitro*, ont été inoculés deux ou trois semaines après le sevrage avec 200 nématodes (issus de culture axénique sur carotte) par plant, et les dénombrements ont été réalisés après 9, 14, ou 19 semaines d'incubation.

Les disques de carottes (contenus dans des flacons de 100cm<sup>3</sup>), sont inoculés avec 100 nématodes, et la récupération de l'inoculum a lieu 9, 12, ou 15 semaines après l'inoculation.

Les racines excisées de maïs (contenu dans des boîtes de Petri), sont inoculés avec 100 nématodes, et les comptages sont réalisés après 10 semaines d'incubation.

Le dénombrement à 9 semaines, a permis de montrer que toutes les variétés ont une certaine sensibilité à l'égard de *P. brachyurus*.

Dès cette date, on observe l'influence du nématode sur la croissance des parties aériennes, mais il faut attendre 19 semaines pour voir apparaître les différences de croissance des racines entre témoins et inoculés pour toutes les variétés.

C'est aussi à 19 semaines que les variétés PH 86 et VE 129 semblent montrer un caractère de tolérance à *P. brachyurus*.

La suppression totale de la nutrition minérale, a accentué l'impact de ce nématode sur le développement des plantes.

Pour l'élevage de *P. brachyurus* sur carottes, on récupère les quantités maximales d'inoculum 9 semaines après l'inoculation.

Les racines excisées de maïs, ne peuvent pas être utilisées pour l'élevage de masse de *P. brachyurus*, en raison du nombre réduit de nématodes extraits par rapport à l'élevage sur carottes.

Mots clés : *Pratylenchus brachyurus*, *Ananas* sp., criblage variétal, test précoce, élevage de nématodes.

## REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers tous ceux qui m'ont aidé durant ce stage :

- Monsieur SARAH, Chef du service Nématologie/Entomologie de l'I.R.F.A., qui m'a aimablement accueilli dans son laboratoire, et qui m'a suivi au cours de ce travail.

- Monsieur BOISSEAU, qui m'a initié aux techniques de nématologie.

- Monsieur LACOEUILHE, pour sa gentillesse et ses précieux conseils.

Je tiens également à assurer de ma sympathie Madame TEISSIER et Monsieur ANZUETO.

	Page
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	2
I) L'ANANAS	2
A) PRODUCTION ET REPARTITION	2
B) QUELQUES ELEMENTS CONCERNANT L'ANANAS	2
II) LES NEMATODES DE L'ANANAS	4
III) <i>Pratylenchus brachyurus</i>	4
A) TAXONOMIE ET ANATOMIE	4
B) CYCLE BIOLOGIQUE	5
C) FACTEURS AFFECTANT LE PARASITISME	6
D) HOTES	7
IV) RELATIONS PLANTE-NEMATODE	7
A) SYMPTOMES DES ATTAQUES	7
B) INCIDENCE DE L'INFESTATION	8
V) LUTTE CONTRE <i>P. brachyurus</i>	9
A) PRATIQUES CULTURALES	9
1) Jachère	9
2) Amélioration du pH	9
B) LUTTE BIOLOGIQUE	10
C) LUTTE CHIMIQUE	10
1) Les Fumigants	11
2) Les Non Fumigants	12
D) AMELIORATION VARIETALE	12
VI) PRESENTATION DU TRAVAIL	14
CHAPITRE II : <u>MATERIELS ET METHODES</u>	16
I) MATERIEL VEGETAL	16
1) Culture <i>in vitro</i> de l'ananas	16
2) Conduite des plants après la phase <i>in vitro</i>	17
II) LES NEMATODES	18



III)	DESCRIPTIF DE L'EXPERIMENTATION	19
A)	ETUDES VARIETALES	19
a)	Essai 1 ; Recherche de l'intervalle Inoculation- Observation	19
b)	Essai 2 : Criblage varietal	20
B)	ETUDES SUR L'ELEVAGE DE <i>P. brachyurus</i>	22
a)	Essai 3 : Désinfection des nématodes	22
b)	Essai 4 : Comparaison de deux méthodes de préparation de carottes pour élevage de nématodes	22
c)	Essai 5 : Test de doses d'inoculum pour élevage de nématodes sur carottes	23
d)	Essai 6 : Elevage axénique de <i>P. brachyurus</i> sur racines de maïs excisées	24
	CHAPITRE III : <u>RESULTATS - DISCUSSION</u>	25
A)	RESULTATS	25
a)	Essai 1 : Recherche de l'intervalle Inoculation- Observation	25
b)	Essai 2 : Criblage variétal	27
c)	Essai 3 : Désinfection des nématodes	29
d)	Essai 4 : Comparaison de deux méthodes de préparation de carottes pour élevage de nématodes	31
e)	Essai 5 : Test de doses d'inoculum pour élevage de nématodes sur carottes	32
f)	Essai 6 : Elevage axénique de <i>P. brachyurus</i> sur racines de maïs excisées	34
B)	DISCUSSION	35
1)	Modalités du criblage variétal	35
2)	Conditions d'élevage de <i>P. brachyurus</i> sur disques de carotte	38
3)	Intérêt de la culture de <i>P. brachyurus</i> sur racines de maïs excisées	40
	CONCLUSION	41
	BIBLIOGRAPHIE	
	ANNEXES	

## INTRODUCTION

Les nématodes parasites ont un impact économique très important sur la culture de l'ananas à travers le monde.

Selon les régions, diverses espèces sont impliquées dans ces dommages. *Pratylenchus brachyurus*, présent dans les zones tropicales les plus chaudes, est celui qui est intrinsèquement le plus pathogène.

Cet endoparasite migrateur provoque des lésions profondes dans les racines entraînant leur dépérissement plus ou moins total et rapide selon les conditions bio-écologiques. (PY & al, 1984)

Les techniques de lutte actuelle font essentiellement appel aux ressources de l'industrie chimique.

Cette méthode donne de bons résultats, mais est très coûteuse et non dépourvue de dangers (pour l'environnement comme pour la culture elle-même).

Dans le cadre de recherches de solutions alternatives visant à la généralisation d'une lutte raisonnée, l'étude des sources de résistance (tolérance ou incompatibilité) aux nématodes, est une des voies à privilégier.

Jusqu'à présent, et contrairement à d'autres plantes, on ne connaît pas de variétés montrant de signes clairs de résistance à *Pratylenchus brachyurus*. (CASWELL & al, 1990) La recherche de telles variétés demande la mise au point d'un test fiable de criblage le plus précoce et le plus rapide possible.

Cela est possible grâce aux outils dont on dispose maintenant : propagation *in vitro* de plantules, et élevages axéniques de nématodes.

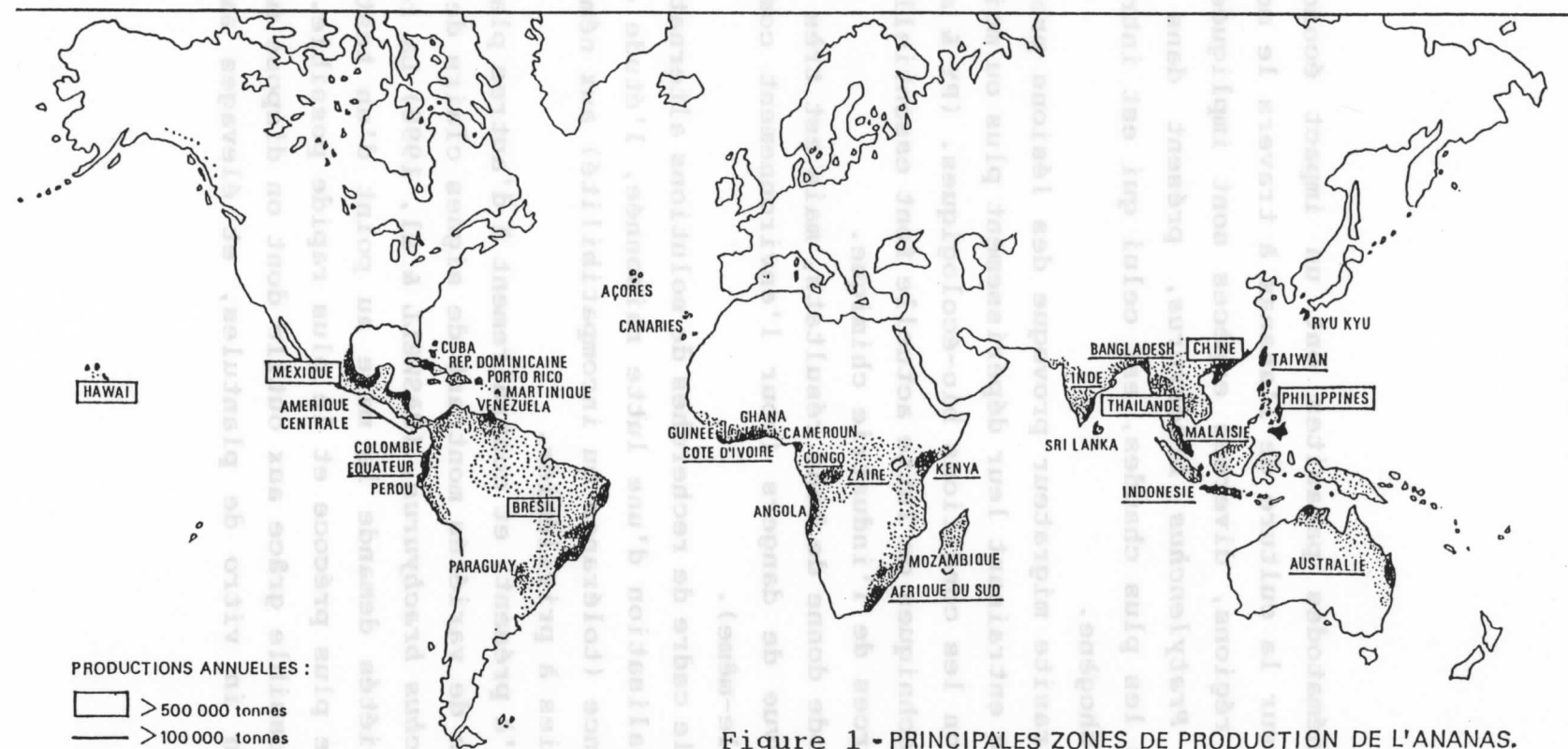


Figure 1 - PRINCIPALES ZONES DE PRODUCTION DE L'ANANAS.

(D'après PY & al, 1984)

## CHAPITRE I : BIBLIOGRAPHIE

### I) L'ANANAS

#### A) PRODUCTION ET REPARTITION

La production mondiale de l'ananas était de 11 millions de tonnes en 1990 (soit près de deux fois plus que dix ans plus tôt) dont les 3/4 sont consommés localement.

Sur le quart restant, qui est donc exporté (essentiellement vers l'Amérique du Nord, Europe Occidentale, Japon), la plus grosse part (20 p.cent sur les 25 p.cent) est destinée à la conserverie.

L'Asie assure plus de 60 p.cent de la production mondiale, la Thaïlande et les Philippines étant les principaux producteurs et exportateurs (Figure 1).

20 p.cent de la production mondiale provient de l'Amérique Latine et des Caraïbes. (PY & al, 1984)

La production Africaine est d'environ 10 p.cent, et la Côte d'Ivoire, l'Afrique du Sud et le Kenya en sont les plus grands exportateurs.

Les principaux producteurs dans le Pacifique sont l'Australie et Hawaï.

#### B) QUELQUES ELEMENTS DE BIOLOGIE ET D'AGRONOMIE

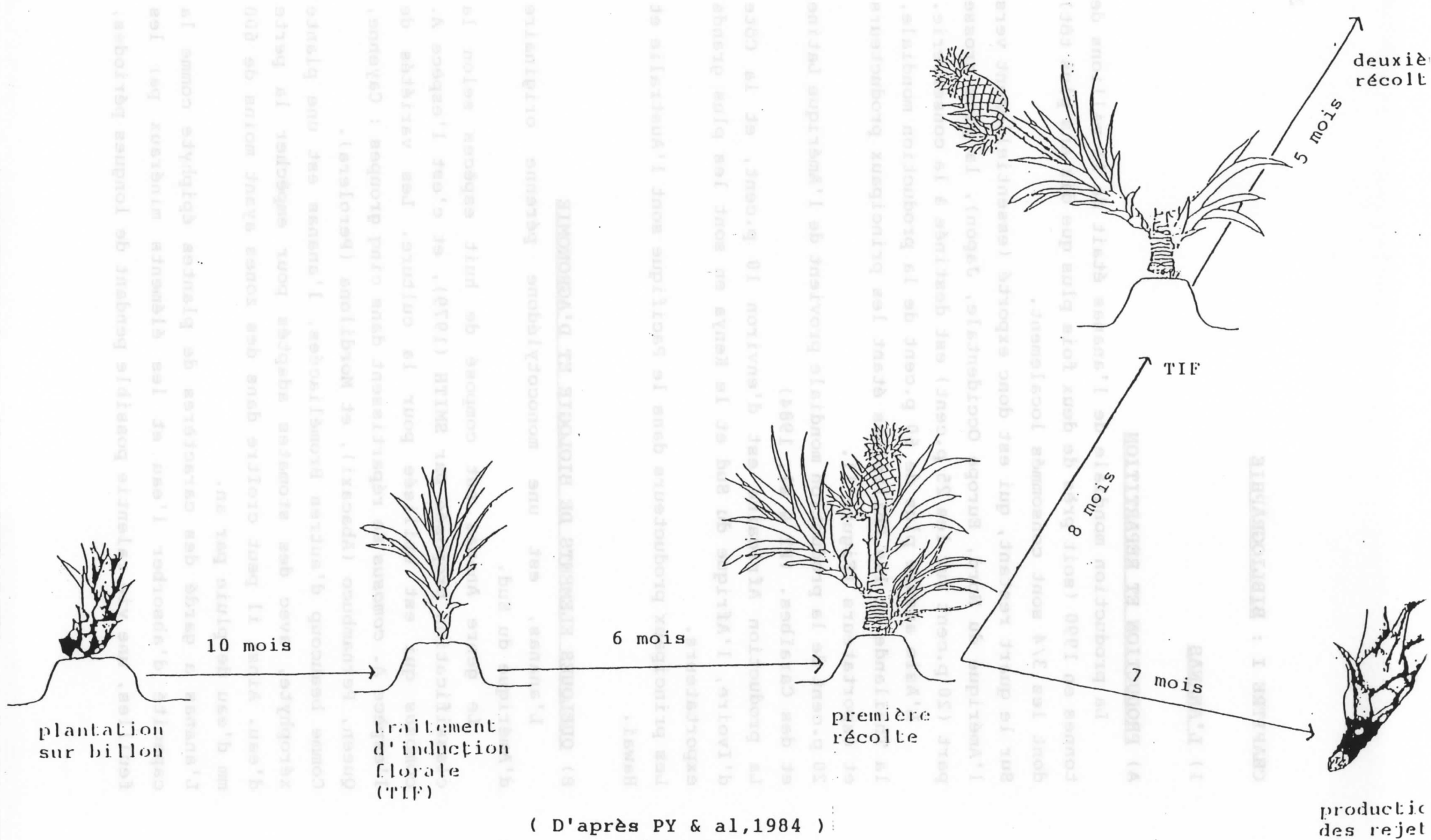
L'ananas, est une monocotylédone pérenne originaire d'Amérique du Sud.

Le genre *Ananas* est composé de huit espèces selon la classification proposée par SMITH (1979), et c'est l'espèce *A. comosus* qui est utilisée pour la culture. Les variétés de l'espèce *A. comosus* se répartissent dans cinq groupes : Cayenne, Queen, Pernambuco (Abacaxi), et Mordilona (Perolera).

Comme beaucoup d'autres Broméliacées, l'ananas est une plante xérophyte, avec des stomates adaptés pour empêcher la perte d'eau. Ainsi il peut croître dans des zones ayant moins de 600 mm d'eau de pluie par an.

L'ananas a gardé des caractères de plantes épiphyte comme la capacité d'absorber l'eau et les éléments minéraux par les feuilles, une vie ralentie possible pendant de longues périodes,

# EXEMPLE DE CYCLE DE L'ANANAS



( D'après PY & al, 1984 )

Figure 2

la présence, à la base des feuilles, de racines adventives pouvant absorber l'eau et les solutions recueillies par les feuilles.

Les systèmes racinaires aériens et souterrains sont tous deux constitués par des racines adventives, car les racines primaires, d'origine embryonnaire, n'existent que sur les plants issus de semis. (PY & al, 1984)

L'ananas cultivé est propagé végétativement par des couronnes et des rejets, car il est auto-stérile.

Le développement du fruit à partir du bourgeon terminal est parthénocarpique. Ce fruit (grappe soudée) est constitué de 100 à 200 drupéoles semblables à des baies disposées en huit spirales autour d'un coeur central qui est en continuité avec le pédoncule.

L'éthylène ou d'autres régulateurs de croissance sont utilisés pour induire la floraison, 6 à 16 mois après la plantation, selon le climat, le matériel végétal de plantation et l'utilisation des fruits. (Cf. Cycle de l'ananas; Figure 2)

Le principal facteur d'induction de la floraison naturelle est la nyctipériode, dont l'allongement rend la floraison d'autant plus précoce.

La différenciation dépend donc quantitativement des effets des jours courts qui se cumulent (PY & al, 1984), mais dans les pays de la région intertropicale, les variations de la photopériode sont relativement faibles, de sorte que le traitement d'induction florale (TIF), est nécessaire pour grouper la floraison de tous les plants d'une parcelle.

Ainsi, ce TIF permet de récolter à peu près en même temps tous les fruits d'une même parcelle, et de produire à l'époque choisie, des fruits d'un poids moyen prédéterminé.

L'ananas est planté tout au long de l'année dans la plupart des endroits où il est cultivé.

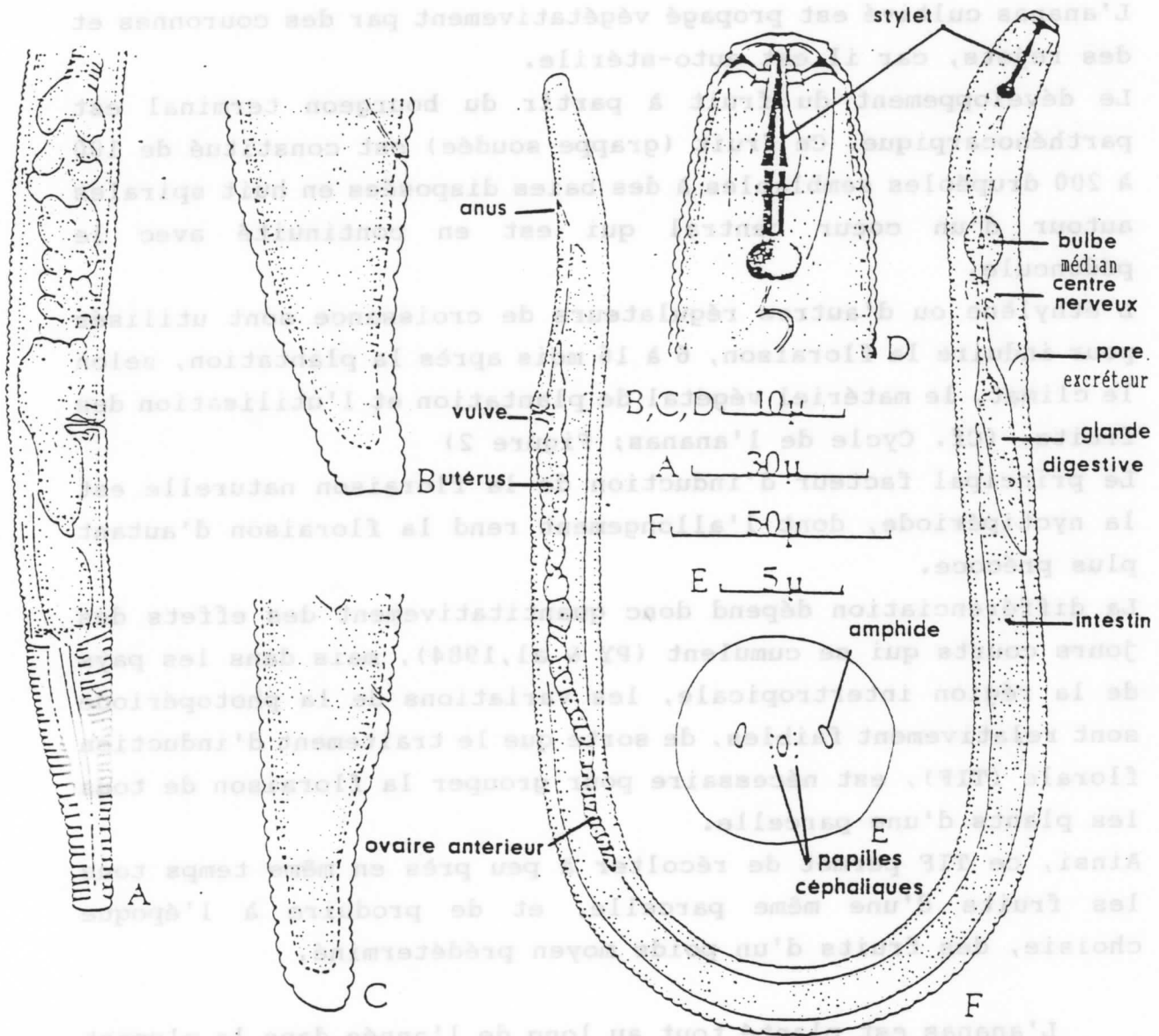
La densité de plantation peut varier de 15.000 à 120.000 plants par hectare, selon le clone, les conditions écologiques ou les systèmes de production.

Le matériel végétal est généralement planté sur billons avec des

## Caractéristiques

**Femelle** : Longueur = 0,39-0,75 mm  
Position de la vulve par rapport à l'extrémité antérieure, en pourcentage de la longueur du corps  
V = 82-89%

Longueur du stylet (S) = 17 $\mu$   
**Mâle** : Longueur = 0,46-0,56 mm  
S = 15 $\mu$



*Pratylenchus brachyurus* femelle. A partie postérieure; B-C Extrémité postérieure; D Tête de profil; E Tête: vue de face; F femelle entière.

(D'après Corbett, 1976)

Figure 3



rangées de deux lignes (rangée séparée de 40-60 cm) avec des chemins de 90 cm. La densité variant de 50.000 à 75.000 plants/hectare.

Les billons peuvent être recouverts d'un plastique noir (couramment à Hawaï) pour retenir les fumigants et l'humidité, accroître la température du sol et permettre de lutter contre les adventices.

## II) LES NEMATODES DE L'ANANAS

Plus d'une centaine de nématodes ont été répertoriés sur les systèmes racinaires de l'ananas ou dans le sol à proximité, mais la plupart d'entre eux ont un pouvoir pathogène limité ou inconnu.

Les espèces de première importance dans la production de l'ananas sont :

- les nématodes à galles *Meloidogyne javanica* : (Treub) à Hawaï, Australie, Zimbabwe, Afrique de Sud, et avec moins d'extention *Meloidogyne incognita* : (Kofoid & White) à Puerto Rico.
- *Rotylenchulus reniformis* : (Linford & Oliveira) à Hawaï et aux Caraïbes,
- *Pratylenchus brachyurus* : (Godfrey, 1929; Filipjev et Schuurmans, Steekhoven; 1941) qui est celui dont les effets sont les plus néfastes dans les régions tropicales les plus chaudes telles que la Côte d'Ivoire, Uganda, Afrique du Sud (nord du Natal), Brésil. (CASWELL & al, 1990)

Bien que présent, il est d'une importance limitée dans les latitudes plus élevées telles que les Caraïbes, Hawaï ou la province du Cap (Afrique du Sud).

## III) *Pratylenchus brachyurus*

### A) TAXONOMIE ET ANATOMIE

*P. brachyurus* (Photo 1) appartient à la famille des Pratylenchidae (Thorne, 1949) Siddiqi 1963.

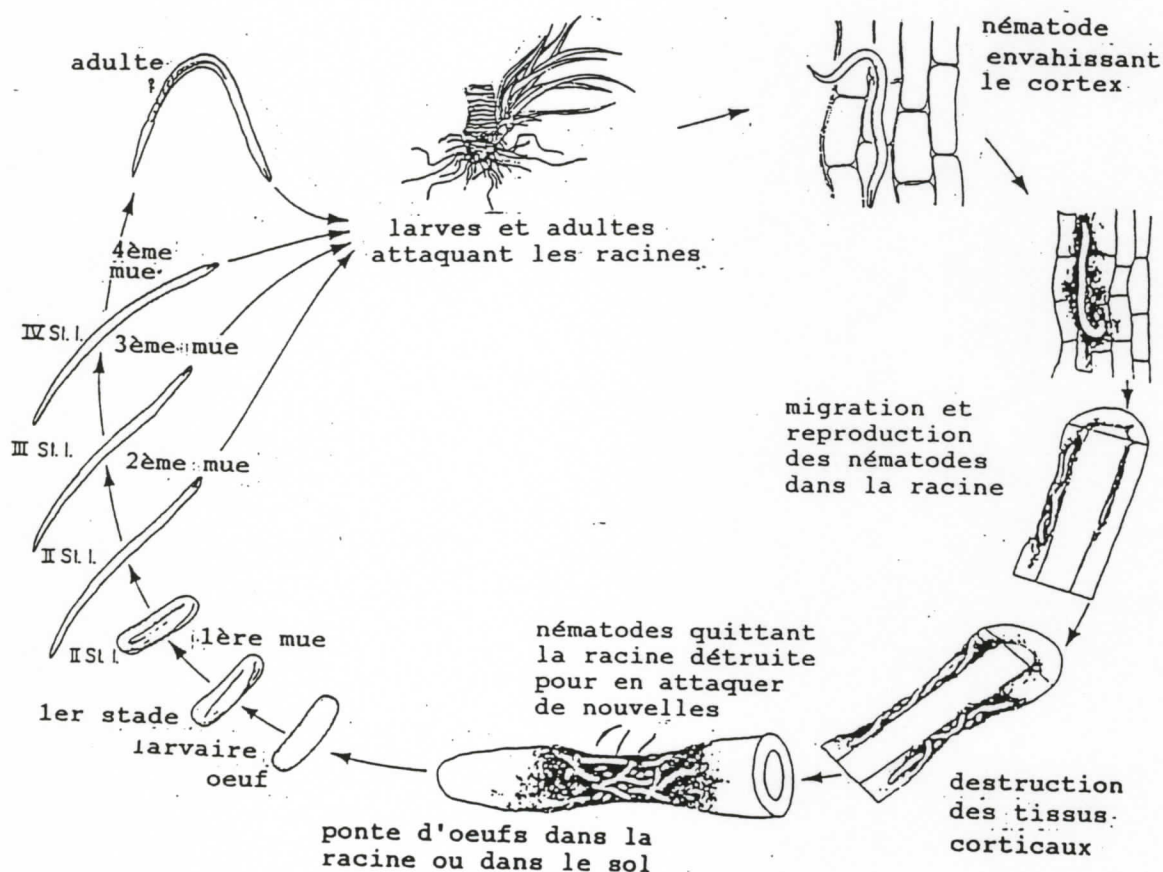
Le stylet est court et rigide (Cf Figure 3), et possède à la base des protubérances basales bien développées. (DROPKIN, 1980)



## B) CYCLE BIOLOGIQUE

*Pratylenchus brachyurus* est un endoparasite migrateur (nématode mobile à tous les stades, et qui se développe dans les racines). Les mâles étant exceptionnels, la reproduction s'effectue par mitose parthénogénétique. (KEETCH, 1977)

Les oeufs sont déposés dans les racines (Photo 2) ou dans le sol. Les larves subissent 4 mues (la première dans l'oeuf) pour devenir adulte. Les larves de deuxième stade mettent en moyenne 17 jours pour éclore ; vient ensuite trois stades larvaires. Il s'écoule 15 jours supplémentaires avant que la femelle débute la ponte qui s'étend sur environ 33 jours à raison d'un oeuf/jour.



(D'après ANONYME)

A 25 ou 30°C qui est l'optimum de température pour le développement du nématode, il suffit donc de 4 semaines pour effectuer un cycle. Par contre, à 5 ou 10°C, 14 semaines sont insuffisantes pour boucler un cycle sur le maïs. (OLOWE & CORBETT, 1976)

Le taux de reproduction dépend aussi de la température, et à 5 ou 10°C, *P. brachyurus* ne pond pas d'oeuf, tandis que l'on obtient le plus grand nombre d'oeufs à 29 ou 30°C. (LINSEY & CAIRNS, 1971) *P. brachyurus* qui pénètre dans la racine à tout stade de développement, pond très rapidement après la pénétration, et les adultes sont plus efficaces que les larves pour induire l'infestation. (SOUTHARDS, 1968)

### C) FACTEURS AFFECTANT LE PARASITISME

Le développement du nématode est très influencé par certains facteurs climatiques et en premier lieu, par la pluviosité, secondairement par la température dépendante du couvert végétal et du rayonnement qui agissent sur le métabolisme de la plante, et influent sur le dynamique racinaire.

Ces différents facteurs ont une incidence directe sur l'activité des nématodes, mais également indirecte par la réponse de la plante aux premiers. (PY & al, 1984; SARAH & HUGON, 1991)

L'évaluation de la valeur de l'infestation initiale du sol n'est donc pas suffisante pour prévoir l'importance du parasitisme ultérieur. (LACOEUILHE & GUEROUT, 1976)

En Afrique du Sud, KEETCH (1977) a montré qu'après 35 jours durant lesquels on a enregistré des températures supérieures à 44°C, 50 à 75 p.cent des nématodes disparaissaient. En exposant en laboratoire des sols à une température de 5°C, ils peuvent survivre.

Ce sont les inter-saisons chaudes et modérément humides qui sont généralement les plus favorables au développement des populations, alors que les périodes très sèches ou au contraire très humides le sont beaucoup moins. (SARAH, 1990)

Un autre facteur affectant le parasitisme de *P. brachyurus*, est le pH. Le pourcentage d'infestation est supérieur dans les sols acides et reste faible si le pH dépasse 5-5,5. (OSSENI,

1990) La plupart des sols Ivoiriens sont très acides, ce qui peut expliquer l'importance de *P. brachyurus* dans ce pays.

#### D) HOTES

*P. brachyurus* est très répandu dans les tropiques, de sorte que outre l'ananas, il est présent sur plus d'une centaine d'espèces cultivées, notamment sur pomme de terre, maïs, soja, manioc, arachide, cotonnier, caféier, citrus, canne à sucre, avocatier.

Etant très polyphage, le nématode survit entre deux cycles de cultures d'ananas sur un très grand nombre d'adventices. (LUC & DE GUIRAN, 1960; GAST & al, 1984)

### IV) RELATIONS PLANTE-NEMATODE

#### A) SYMPTOMES DES ATTAQUES

*P. brachyurus* provoque des lésions profondes dans les racines, entraînant leur dépérissement plus ou moins total et rapide.

Au point d'infection (au niveau des poils absorbants ainsi qu'au point d'émergence des racines latérales), une nécrose noirâtre se développe, et peut s'étendre progressivement à toute la surface de la racine.

La pénétration du nématode peut être très rapide ; invasion des racines en 3 à 6 heures après inoculation sur tabac. (INAGAKI & POWELL, 1969)

Les lésions sont suivies de la mort et de la décoloration des cellules de l'épiderme, et cela peut s'étendre à toute l'épaisseur de la racine . Quatre jours après l'infection, on peut constater les colorations noirâtres occasionnées par ce nématode, et les lésions distinctes apparaissent deux jours plus tard.

A ce stade, le parenchyme cortical est détruit, causant la séparation du cortex du cylindre central.

Les dommages du tissu parenchymateux ne sont généralement pas visibles dans le champ, car les racines de l'ananas sont rapidement subérifiées. (CASWELL & al, 1990)



Photo 1 : *Pratylenchus brachyurus* attaquant une cellule  
(Photo SARAH)

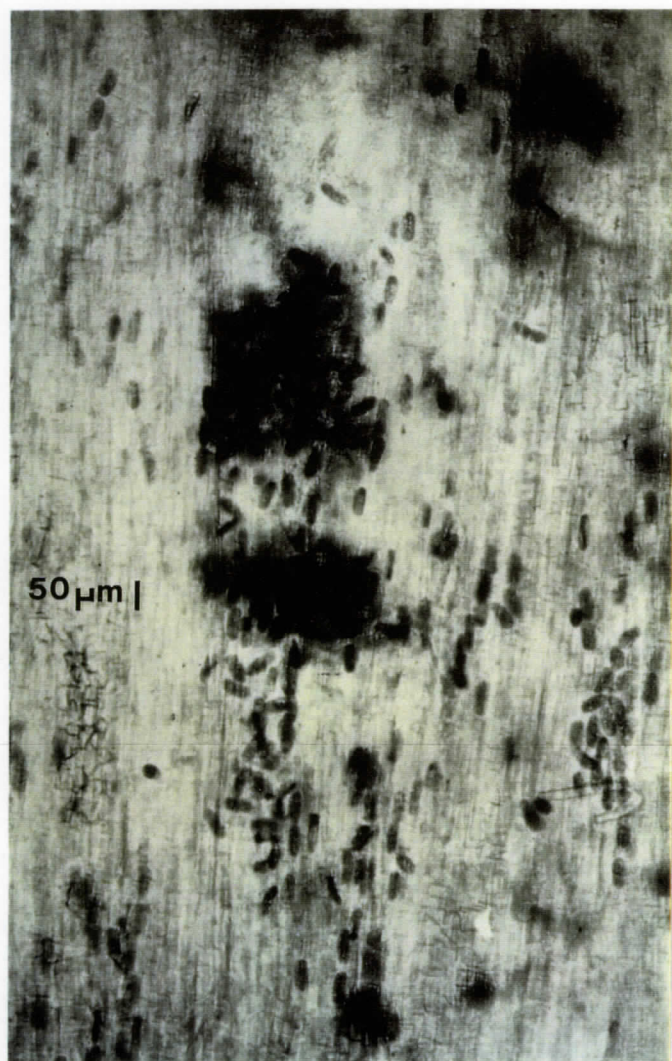
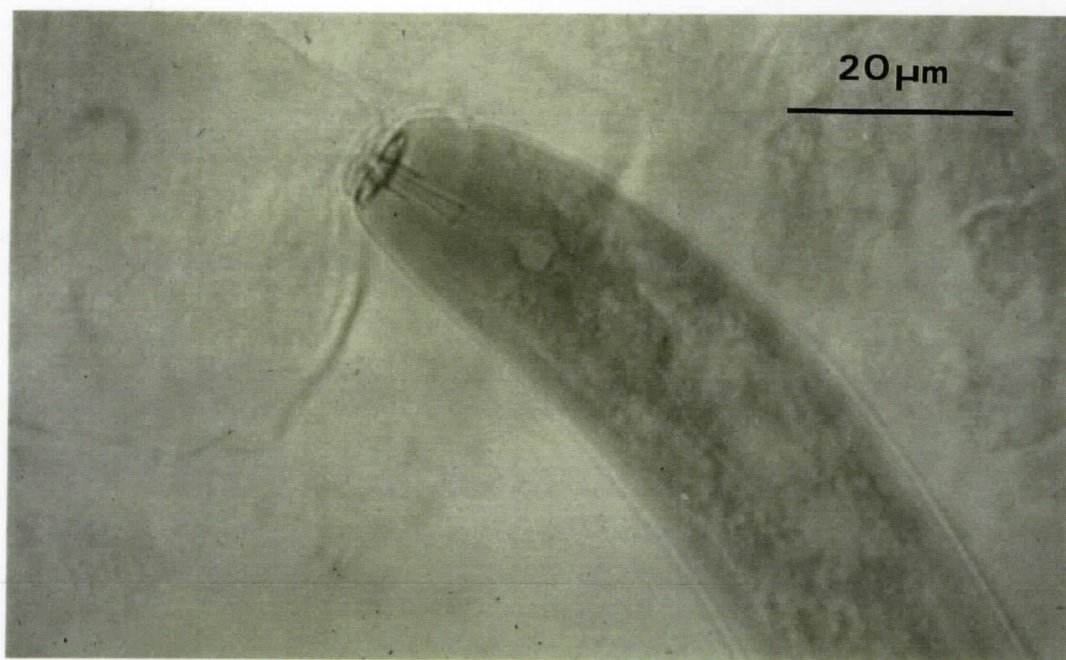


Photo 2  
Pontes de *P. brachyurus*  
dans une racine (Photo SARAH)



Photo 3  
Intérêt d'un traitement nématicide  
Traité / Témoin (Photo SARAH)



Sur d'autres plantes (maïs et canne à sucre), ce nématode détruit aussi les vaisseaux. (OLOWE & CORBETT, 1976; ONAPITAN & AMOSU, 1982)

Les dommages causés au système racinaire affectent évidemment l'alimentation des plantes, de sorte que les feuilles des plants atteints sont habituellement étroites, érigées avec un profil en section transversale nettement accusé. (Photo 3) Leur coloration prend souvent une nuance rosé à rouge; elles perdent leur turgescence : autant de manifestations d'une sous alimentation en eau et en éléments nutritifs, qui s'explique par l'altération du fonctionnement des racines, et que l'on retrouve dans le cas d'asphyxie des racines, ou déficit hydrique...

Dans les cas les plus graves, il peut même y avoir dessèchement de l'extrémité des feuilles.

De telles déficiences sont particulièrement perceptibles si les engrais sont appliqués en granulés au sol avant la plantation, car l'absorption est supprimée par les dégâts causés aux racines. Dans le cas d'approvisionnement par pulvérisation foliaires, l'absorption directe des éléments par les feuilles diminue l'influence de ce nématode sur la croissance foliaire. (LACOEUILHE & GUEROUT, 1976)

#### B) INCIDENCE DE L'INFESTATION

D'une manière générale, l'émergence des feuilles est retardée, leur poids diminué de 35 à 40 p.cent. (HUGON & MALEZIEUX, 1990; OSSENI, 1990)

En Côte d'Ivoire, du fait de ces attaques, il est fréquent que l'on ait à déplorer des baisses de rendements de l'ordre de 30 à 40 p.cent en premières récolte. En cycle long, elles peuvent même atteindre 60 p.cent. (SARAH, 1981)

La deuxième récolte est encore plus dépendante, puisque les tonnages récoltés peuvent être réduits de 80 p.cent. (LACOEUILHE & GUEROUT, 1976)

L'effet de ce nématode se fait sentir non seulement sur la production des fruits, mais également sur celle des rejets.

## V) LUTTE CONTRE P. brachyurus

Le mode de vie souterrain des nématodes, les possibilités de survie, les faibles connaissances concernant leur biologie, font qu'il est particulièrement difficile de mettre en oeuvre des méthodes de lutte pratiques et économiques.

### A) PRATIQUES CULTURALES

#### 1) Jachère

Une jachère nue (absence de toute végétation) peut être utilisée pour éviter le maintien d'espèces de nématodes dangereuses telles que *P. brachyurus*. (KOENNING & SMITT, 1985) On peut donc grâce à un travail du sol en l'absence de toute végétation, parvenir à diminuer considérablement l'inoculum du sol. Cet abaissement de l'inoculum permet de retarder l'infestation des plants. (OSSENI, 1985)

Mais, dans ces conditions, on a montré que 6 mois sont insuffisants pour empêcher, lors de la culture, une remontée rapide des populations de ce parasite. (SARAH, 1987)

En région tropicale, les risques de lixiviation des éléments solubles, et la baisse de la fertilité par suppression de la matière organique sont importants sur sol nu. Ainsi, à cause des inconvénients de la jachère nue, il est préférable de trouver une couverture végétale non hôte ou tout au moins mauvais hôte, pour diminuer les populations de ce nématode sans abaisser la fertilité du sol.

Cultiver des plantes mauvais hôtes de nématodes de l'ananas entre deux cycles de cultures, donne habituellement des résultats très positifs. (GUEROUT, 1969)

On peut avoir les effets cumulés d'une baisse des populations de nématodes, et d'une amélioration physique du sol (avec *Panicum maximum* par exemple), qui s'accompagne habituellement d'une amélioration chimique lorsque l'on fait appel à des légumineuses.

#### 2) Amélioration du PH

Les pH très acides généralement inférieurs à 4,5, favorisent l'accroissement des populations du nématode alors qu'aux pH

supérieurs (5-5,5), les nématodes sont à un niveau très faible ou presque nul. (OSSENI, 1990)

L'apport de chaux est donc un moyen de lutte utilisable contre ce nématode, mais il faut agir avec modération, car le pH optimum de l'ananas varie entre 4,5 et 5,5, et en augmentant le pH, on peut avoir le blocage de certains oligo-éléments, induction d'accidents physiologiques comme le "crook neck", ou pourriture due à *Phytophthora*. (SARAH, 1986)

#### B) LUTTE BIOLOGIQUE

La lutte biologique signifie la réduction de la population de nématodes par la stimulation ou l'introduction de prédateurs et de parasites. Mais si l'on connaît beaucoup d'ennemis naturels, dans l'état actuel des connaissances concernant *P. brachyurus*, on n'a pour un proche avenir, que peu d'espoir de lutte par cette voie. (PY & al, 1984)

Par ailleurs, ce nématode peut développer son cycle complet à l'intérieur des racines sans être inquiété par d'éventuels antagonistes du sol. En supposant que l'on réussisse à implanter un antagoniste, celui-ci ne pourra agir que par réduction de l'inoculum avant plantation. (ANONYME, 1987)

#### C) LUTTE CHIMIQUE

Les traitements de sols par voie chimique à l'aide de nématicides permettent une diminution plus rapide de l'inoculum que les autres techniques liées aux diverses pratiques culturales, mais pas plus que ces dernières, ils ne permettent une éradication des nématodes.

La lutte chimique comprend fondamentalement un traitement aux environs de la plantation, avant que les parasites n'aient pu pénétrer dans les racines et généralement un ou plusieurs traitements dits de rappel intervenant juste avant les périodes favorables à un accroissement brutal des populations (périodes à la fois chaudes et humides qui correspondent par ailleurs à une forte activité physiologique). (SARAH, 1980 ; ANONYME, 1983)

Le traitement de plantation permet de protéger les racines dès leur émission. Cette protection dans les tous premiers mois est

essentielle pour obtenir les meilleurs rendements.

Un plant mal protégé au départ, rattrapera difficilement son retard.

En prolongeant l'action du traitement de plantation, le ou les traitements de rappels permettent d'accroître encore la production.

La gamme des nématodes, la diversité des caractéristiques écologiques des sites et des systèmes de cultures existants, font que chaque plantation est un cas particulier. Face au problème posé, on dispose d'un arsenal de produits extrêmement différents. On distingue habituellement deux grands groupes de nématicides:

- Les nématicides de contacts comprenant les fumigants (organohalogénés) et les thiocyanates.
- Les non fumigants qui ont également une certaine action de contact et dont beaucoup ont une activité systémique, comprenant les organophosphorés et les carbamates.

#### 1) Les Fumigants

Ce sont des produits qui ont une tension de vapeur élevée. Injectés dans le sol, ils se vaporisent spontanément et leurs vapeurs sont nématicides. Ces vapeurs n'agissent pas sur les parasites ayant déjà pénétrés dans les racines, et il est donc primordial de traiter avant l'émission racinaire.

Les fumigants ne présentent un intérêt que pour le traitement de plantation, car les injections dans le sol en cours de végétation, ne sont pas mécanisables et sont très difficiles à réaliser correctement.

De plus, la phytotoxicité de certains d'entre eux (DD et EDB) rend purement et simplement impossible leur utilisation en cours de végétation.

Les fumigants possèdent l'avantage d'être peu coûteux et très efficaces quand ils sont correctement utilisés. Cette efficacité sera cependant réduite, si le sol est trop argileux et/ou saturé d'eau, le produit diffuse mal ; ou trop léger et/ou trop sec, il se dégage dans l'air. Leur utilisation sera également impossible dans les sols très caillouteux dans lesquels les injecteurs pénètrent mal. (ANONYME, 1983)



## 2) Les Non Fumigants

Ce sont des nématicides qui peuvent être absorbés en plus grande quantité par la plante, et donc le cas échéant, agir sur les parasites ayant déjà pénétrés dans les racines. Leur activité principale, cependant, reste d'empêcher cette pénétration.

Ils sont utilisables en pulvérisations foliaires (fénamiphos), ou en applications sous forme de granulés (fénamiphos, éthoprophos). Les pulvérisations foliaires sont les plus pratiques à réaliser, car facilement mécanisables. Les granulés ont généralement une activité plus prolongée et sont mieux tolérés par la plante, mais ils ont besoin d'eau pour agir.

Les systémiques peuvent être utilisés pour le traitement de plantation, chaque fois que l'utilisation des fumigants n'est pas possible ou pas souhaitable, et surtout pour les traitements de rappel.

Ils présentent l'inconvénient d'être très onéreux. (ANONYME, 1983)

La lutte chimique utilisée seule reste cependant limitée dans son action (notamment dans sa durée), et entraîne des effets pervers (SARAH, 1981) :

- Effets négatifs sur l'écosystème par les fumigants essentiellement (microorganismes telluriques notamment), sur l'environnement, et par risque de toxicité humaine.
- Effets secondaires négatifs sur la physiologie de la plante (phytoxicité, interaction avec le complexe hormonal, risques de résidus...). (SARAH, 1983 et 1987)

## D) AMELIORATION VARIETALE

Actuellement, la lutte intégrée en culture d'ananas a deux composantes majeures : pratiques culturales et lutte chimique. L'intérêt pour la lutte biologique restant hypothétique dans le temps présent, la recherche de variétés résistantes ou au moins tolérantes à *P. brachyurus*, va représenter un axe important des programmes de recherches. (ANONYME, 1987)

La résistance correspond à la capacité de la plante à inhiber la pénétration ou le développement et la reproduction des nématodes qui l'ont parasité. Il y a donc réduction du taux de

multiplication du nématode. (WALLACE, 1987)

La tolérance consiste quant à elle, à un ensemble de mécanismes qui permettent à la plante de supporter les contraintes induites par le parasitisme des nématodes. Cela se traduit d'une manière générale, par des effets minimums sur la croissance des plantes, et sur les rendements.

Selon les cas, la résistance peut être qualifiée de pré ou de post infectieuse. (KAPLAN & KEEN, 1980)

Pour la résistance pré infectieuse, la pénétration des parasites est empêchée, auquel cas, une barrière physique peut être en cause. Il peut s'agir aussi de substances répulsives ou toxiques sécrétés par la plante, ou tout simplement, que celle-ci n'attire pas le parasite considéré.

Ces mécanismes expliquent une grande partie des phénomènes de spécificité des attaques. (PINOCHET, 1988)

Pour la résistance post infectieuse, la pénétration dans la plante est possible, mais le développement du parasite est empêché ou fortement perturbé.

L'accumulation de substances toxiques (incompatibilité passive) telles que des alcaloïdes, phénols, peut en être responsable, mais le mécanisme le plus répandu, est celui de l'hypersensibilité (incompatibilité active). Les réactions nécrotiques de la plante sont si rapides que le nématode n'a pas le temps de se développer complètement. (KAPLAN & DAVIS, 1987)

Pour l'ananas, on ne se limitera pas à la seule espèce *A. comosus* (espèce cultivée) lors de la recherche des sources de résistance.

Il existe beaucoup d'espèces de nématodes susceptibles d'attaquer l'ananas et de provoquer des dégâts, de sorte que, la recherche s'orientera vers les résistances multiples à ces différents nématodes (FASSULIOTIS, 1987), mais l'incidence de *P. brachyurus*, notamment en Côte d'Ivoire, fait que la sélection de variétés résistantes ou tolérantes à ce nématode est pour l'instant l'objectif principal des programmes d'amélioration de l'ananas à l'IRFA. (HUGON, 1990)

Jusqu'à présent, on a pas mis en évidence de résistance à ce nématode.

L'espèce *A. ananassoides*, si elle présente un bon niveau de résistance à *Meloidogyne incognita* et *Rotylenchulus reniformis*, est par ailleurs très sensible à *P. brachyurus*.

L'espèce *A. nanus* s'est révélé être également sensible à ce même nématode. (CASWELL & al, 1990)

Des études réalisées en Côte d'Ivoire montrent que le groupe Queen (6 clones utilisés) est très sensible à l'infestation de *P. brachyurus*. Les groupes Spanish et Mordilona sont encore plus sensible, de même pour *A. bracteatus*. (ANONYME, 1987)

Parallèlement, MESNILDREY (1990) remarque que parmi toutes les variétés testées, la variété la plus cultivée (Cayenne lisse) n'est pas la moins sensible.

## VI) PRESENTATION DU TRAVAIL

Au laboratoire de nématologie du CIRAD/IRFA de Montpellier, des études sur la résistance de l'ananas à l'égard de *P. brachyurus* ont commencé avec l'utilisation de plantules propagées *in vitro* et d'élevages axéniques de nématodes. Les quelques variétés déjà testées se sont révélées être sensibles.

L'utilisation de telles techniques permet d'éviter un goulot d'étranglement au niveau du criblage variétal, car avec des tests précoces et rapides de détection, et des populations de nématodes agressives, on peut détecter les variétés les plus intéressantes. Ces tests utilisant de jeunes plants issus de la multiplication *in vitro*, présentent l'avantage d'être assez homogènes, car ils ont tous la même origine (même clone).

Ils sont aussi beaucoup moins encombrants, de sorte que l'on a besoin de moins de place en serre ou en pièce thermorégulée, et les différentes manipulations réalisées pour l'extraction des nématodes sont allégées.

L'utilisation de petits plants permet aussi de les inoculer avec peu de nématodes. Leur élevage prend donc moins de temps.

Ce type de test utilisant de jeunes plants et des élevages de nématodes, est un outil qui va permettre dans l'avenir de tester un grand nombre de variétés avec plusieurs populations de nématodes.

En effet, il semble qu'il existe différents biotypes de ce nématode. (O'BANNON & TOMERLIN, 1970)

Mon travail, a consisté en la poursuite des travaux d'amélioration du test de sélection, au criblage proprement dit, et au peaufinage des techniques d'élevages du nématode considéré.

## CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

### I) Matériel végétal

Les plants d'ananas utilisés sont tous issus de micropropagation *in vitro*, et proviennent soit du laboratoire de C.I.V du CIRAD, soit de la société VITROPIC.

Les avantages de cette méthode ont été évoqués au chapitre précédent.

Code du catalogue informatique IRFANA	Espèce	Groupe	Variété
VE 79	<i>A. ananassoides</i>		
VE 80	<i>A. ananassoides</i>		
VE 57a	<i>A. comosus</i>	Indéterminé	Guacamaya
VE 69	<i>A. comosus</i>	Cayenne	
VE 88	<i>A. comosus</i>	Cayenne	
VE 145	<i>A. comosus</i>	Indéterminé	Valéra amarilla
GF 94	<i>A. comosus</i>		
BR 1	<i>A. comosus</i>	Pernambuco	Pérola
TA 39	<i>A. comosus</i>	Queen	Pomaré
PH 86	<i>A. comosus</i>		
VE 78	<i>A. parguazensis</i>		
VE 131	<i>A. parguazensis</i>		
VE 129	Indéterminé	Indéterminé	Indéterminé

NB : VE= Vénézuéla ; GF= Guyanne Française ; BR= Brésil ;  
TA= Tahiti ; PH= Philippinnes.

### 1) Culture in vitro de l'ananas

Comme la plupart des espèces propagées *in vitro*, la culture de l'ananas peut se diviser en trois phases à 28°C.

- Installation de la culture à partir des bourgeons prélevés sur une couronne ou sur un rejet. (Phase qui dure 2 à 3 mois; la proportion d'explant réagissant est de l'ordre de 70%)
- Prolifération permettant la multiplication des bourgeons.

(Durée : 1 à 2 mois après avoir incisé l'ananas en croix ou l'avoir fendu longitudinalement)

- Croissance permettant le développement des parties aériennes et racinaires des vitroplants. (Durée : 3 semaines à 2 mois selon la variété). (Photo 4)

Les milieux de culture correspondant aux trois phases se trouvent en Annexe 1.

A l'issue de la phase de croissance, les plants sont transférés *in vivo* en phase d'acclimatation : c'est le sevrage.

## 2) Conduite des plants après la phase *in vitro*

Les plants sortis des tubes sont installés dans des petits pots ronds (de 5 cm de diamètre et de 4 cm de hauteur) avec un mélange terreau-terre de bruyère-sable (1/3 ; 1/3 ; 1/3 ). Ce mélange correspond à un sol léger, poreux à ressuyage rapide, favorable aussi bien pour l'ananas que pour les nématodes.

La terre de bruyère permet d'abaisser le pH du sol à une valeur moyenne de 5,1. Cette valeur appartient à l'intervalle de l'optimum du pH de l'ananas (4,5-5,5), et est compatible avec l'optimum de pH pour le développement du nématode.

Les trois composants de ce sol sont stérilisés au four Pasteur à 180°C pendant 1 heure avant utilisation.

Pour réaliser le sevrage dans de bonnes conditions, les petits pots contenant les plants issus de la phase *in vitro*, sont placés dans des miniserres de dimensions : 45(L)x29(l)x18(h) cm.

L'ensemble est disposé dans une pièce climatisée (température de 28°C le jour et de 26°C la nuit, la photopériode étant de 12h/12h ; HR= 80 p.cent le jour et 96 p.cent la nuit) pendant une semaine.

Au moment du sevrage, une première sélection des plants est effectuée, afin d'obtenir une homogénéité de taille intra et inter-variétale.

Les plants sont ensuite transposés dans des pots (de 7 cm de côté et de 9 cm de hauteur), ce qui permet aussi d'effectuer une deuxième sélection des plants, avec toujours comme critère : l'homogénéité de taille.

Les plants ainsi préparés restent dans la même pièce climatisée en attendant d'être inoculés 1 semaine plus tard ; ce qui consiste à apporter autour de chaque plant, dans le substrat, une suspension contenant un nombre de nématodes donné.

Les plants sont arrosés tous les 3 jours avec de l'eau déminéralisée. A chaque arrosage, les volumes sont de 10 ml pendant les 3 premières semaines, puis de 20 ml jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Une fois par semaine, l'arrosage est effectué avec la solution nutritive de Hoagland n°2 (Annexe 2).

## II) LES NEMATODES

Les *P. brachyurus* proviennent d'élevages axéniques sur carottes. On peut alors les récolter par lavage de la paroi des flacons ou broyage des carottes, et ainsi disposer de quantités d'inoculum stables au moment voulu.

L'inoculum initial qui a permis de réaliser ses élevages, provient de racines d'ananas prélevées dans des parcelles infestées de Côte d'Ivoire.

L'élevage est réalisé en suivant la méthode décrite par O'BANNON & TAYLOR (1968) puis BONCATO & DAVIDE (1980) (Annexe 3). Une fois les carottes inoculées, (Photo 5) les flacons sont placés dans une étuve à 29°C. Il faut 8 à 9 semaines pour pouvoir voir apparaître les nématodes sur la paroi de ces flacons.

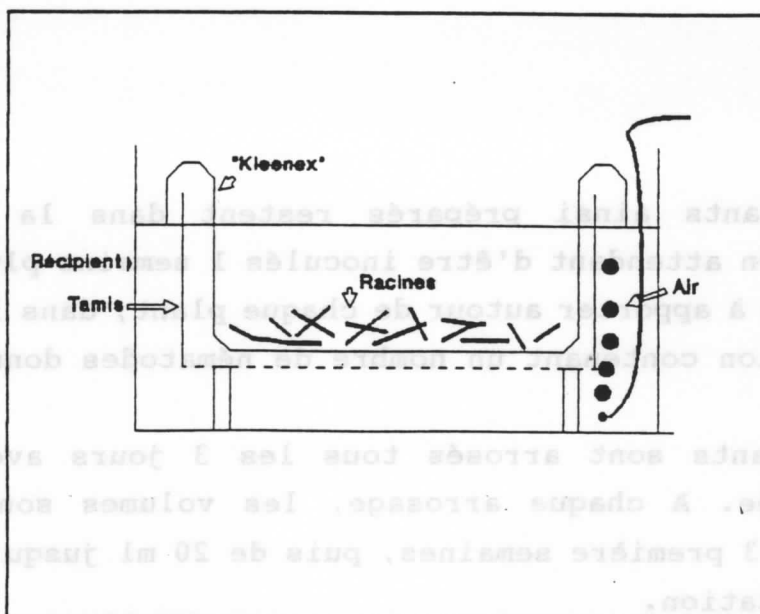
On récupère ces derniers par lavage des parois, mais un test préliminaire ayant montré qu'une forte proportion de nématodes reste dans les rondelles de carottes, il est nécessaire de procéder à leur extraction.

Les premiers nématodes récupérés sont oxygénés en attendant d'obtenir l'inoculum nécessaire pour chaque essai.

### - Extraction à partir des carottes :

Les rondelles de carotte sont broyées 2 fois 5 secondes dans 100 ml d'eau, puis disposées sur un papier absorbant type "Kleenex", lui même fixé sur un tamis à maille large (1 mm).

L'ensemble est immergé dans l'eau qui est oxygéné par des



Dispositif de l'extraction de nématodes  
pour élevages (D'après SARAH, 1991)

Figure 4



aérateurs pour permettre la survie des nématodes qui vont migrer hors des rondelles de carottes, puis à travers le papier absorbant. (cf. Figure 4)

Toutes les 24 heures, et ce pendant 5 jours (le nombre maximum de nématodes récupérés se situe à 3 jours), l'eau est renouvelée, et l'eau récupérée chaque jour contient des nématodes qui sont alors dénombrés.

### III) Descriptif de l'expérimentation

#### A) ETUDES VARIETALES

##### a) Essai 1 : Recherche de l'intervalle inoculation-observation

L'objectif de cette expérience, est de trouver la durée optimale séparant l'inoculation des comptages.

Cette durée devra permettre de faire la distinction entre des variétés sensibles et des variétés résistantes (où le nématode se multiplie peu), ou tolérantes (en analysant l'effet du parasite sur la croissance des plantes).

#### Protocole :

- facteur principal : intervalle inoculation - observation

3 dates : 9 - 14 - 19 semaines (Photo 8)

- facteurs secondaires :

. variété : 4 objets

TA 39 *A. comosus*; Quenn Pomaré (Référence)

VE 88 *A. comosus*; Cayenne

PH 86 *A. comosus*

VE 129 Indéterminé

. dose inoculum (2 objets) : 0 et 200 nématode/plant provenant d'élevages. (inoculation 3 semaines après le sevrage)

- répétition : 5 (un plant par répétition)

Cet essai est disposé suivant un plant en blocs aléatoires complets.

La variété Queen Pomaré est la variété de référence, c'est à dire qu'elle est une des variétés à sensibilité maximale connue.

Les expériences antérieures (MESNILDREY, 1990) avaient été réalisées avec un inoculum de 100 nématodes/plant. Cette dose n'avait pas permis de mettre en évidence de différences de croissance sur la durée des essais (15 semaines).

Nous avons multiplié cette dose par deux en espérant que des niveaux de tolérance pourront être appréciés.

#### b) Essai 2 : Criblage variétal

L'objectif de cette expérience, est de tester la résistance ou la tolérance des 13 variétés dont nous disposons, à l'égard de *P. brachyurus*.

La variété BR 1 (qui au champ au Brésil semble être tolérante au nématode) a eu une phase de prolifération et de croissance en culture *in vitro* trop longue pour être intégrée au premier test. Nous avons donc tenu à réaliser un second test de criblage pour la comparer à certaines des variétés du premier test.

#### - détail du descriptif de l'essai :

\* 1er test de criblage. (Photo 6)

#### - facteur principal : variété (12 objets)

VE 79	<i>A. ananassoides</i>		
VE 80	<i>A. ananassoides</i>		
VE 57a	<i>A. comosus</i>	Indéterminé	Guacamaya
VE 69	<i>A. comosus</i>	Cayenne	
VE 88	<i>A. comosus</i>	Cayenne	
VE 145	<i>A. comosus</i>	Indéterminé	Valéra amarilla
GF 94	<i>A. comosus</i>		
TA 39	<i>A. comosus</i>	Queen Pomaré	(Référence)
Ph 86	<i>A. comosus</i>		
VE 78	<i>A. parguazensis</i>		
VE 131	<i>A. parguazensis</i>		
VE 129	Indéterminé		

#### - facteurs secondaires :

- . durée d'incubation : 19 semaines (Photo 9)
- . dose d'inoculum (2 objets) : 0 et 200 nématodes/plant  
provenant d'élevage. (inoculation 3 semaines après le sevrage)

#### - répétition : 6 (une plante par répétition)

Le dispositif de l'essai est en randomisation totale.

### \*2ème test de criblage

- facteur principal : variété (6 objets)

TA 39, VE 69, GF 94, VE 57a, VE 131 (cités précédemment), et la variété BR 1 : *A. comosus* Pernambuco Pérola

- facteurs secondaires :

- . durée d'incubation : 11 semaines (pour disposer des résultats avant la fin du stage)

- . dose d'inoculum : 200 nématodes/plant provenant d'élevage. (inoculation 2 semaines après l'inoculation)

- répétition : 5 (1 plant/ répétition)

Le dispositif de l'essai est en randomisation totale.

Pour tenter de mettre plus facilement en évidence l'effet des nématodes sur la croissance des plantes, la nutrition minérale a été supprimée au bout de 12 semaines pour le premier test, et au bout de 7 semaines pour le second test.

Les volumes d'eau apportés à chaque arrosage ont été divisés par 2 pour chacun des deux tests à partir des mêmes périodes.

Ainsi, nous espérons que la réduction de croissance occasionnée par le nématode, ne soit pas cachée par un effet compensateur de plantes placées dans un milieu trop favorable pour leur développement.

### Observations réalisées

Pour ces essais d'études variétales, nous avons déterminé les variables suivantes

\*\* Masse des parties aériennes fraîche

\*\* Masse des parties racinaires fraîche

Ensuite, une fois les nématodes extraits des plants par la technique de centrifugation-flottation (Annexe 4).

\*\* Population totale de *P. brachyurus* dans les racines

\*\* Population de nématodes/g de racines

## B) ETUDES SUR L'ELEVAGE DE *P. brachyurus*

### a) Essai 3 : Désinfection des nématodes

Devant les difficultés rencontrées pour maintenir les carottes en état correct pendant plus de 2 mois, nous avons procédé à cet essai pour savoir si la dégradation des disques de carottes est due à une mauvaise désinfection des nématodes.

La méthode de préparation des flacons et des disques de carottes est identique à celle décrite en Annexe 3.

La préparation des nématodes est aussi similaire à celle décrite dans cette même annexe ; Seules les concentrations des désinfectants varient comme suit, ce qui conduit à 4 objets.

	Chlorure mercurique	Dihydrostreptomycine
A	0,01%	0,2% => Concentrations habituelles
B	0,01%	1%
C	0,1%	0,2%
D	0,1%	1%

. dose d'inoculum : 100 nématodes/flacon (issus d'élevages sur carottes)

- 5 répétitions sont réalisés par objet. (1 flacon/répétition)  
Ensuite, les flacons sont mis dans une étuve à 29°C à l'obscurité, et ce pendant 9 semaines (ce qui est d'une façon habituelle, le temps nécessaire pour voir apparaître les nématodes sur les parois).

Le dénombrement est effectué après lavage des parois et par broyage des carottes, ainsi que de la gélose.

Les nématodes sont extraits des broyats par la technique de centrifugation-flottation ( cf Annexe 4).

### b) Essai 4 : Comparaison de deux méthodes de préparation de carottes pour élevage de nématodes

Le but de cette expérience, est de connaître laquelle des deux méthodes permet de conserver au mieux les carottes, et laquelle des deux méthodes permet de récupérer le plus grand nombre de nématodes.

Deux objets constituent cet essai (Photo 10) :

- A : Méthode habituelle de réalisation d'un élevage de nématodes  
( cf Annexe 3 )
- B : Méthode dont les trois différences quant à la préparation des carottes sont;

- Les carottes sont épluchées sans être flambées préalablement
- Les disques découpés dans ces carottes, sont trempés dans de l'alcool à 95°, puis flambés un à un avant d'être transférés dans un bocal stérile
- Les disques de carottes sont alors plongés dans de l'eau de javel avec 1% de chlore disponible pendant 5 minutes, puis rincés 10 fois dans de l'eau stérile avant d'être disposés dans les flacons préparés pour les élevages. (PLOWRIGHT,1990)

Il y a 5 flacons/objet.

Chacun des flacons reçoit 100 nématodes issus d'élevage sur carottes.

Les flacons sont mis pendant environ 9 semaines (pour la même raison que celle évoquée dans l'essai 3) à l'obscurité.

Le mode de dénombrement est identique à celui décrit dans l'essai 3.

#### c) Essai 5 : Test de doses d'inoculum pour élevage de nématodes sur carottes

L'objectif de cette expérience, est de chercher à savoir si il y a une corrélation entre la dose d'inoculum apporté sur les rondelles de carottes, et le nombre de nématodes récupérés.

Par ailleurs, en augmentant la dose d'inoculum, on peut espérer récupérer des nématodes plus rapidement sur les parois, et en plus grande quantité, car il y a une destruction plus rapide des carottes.

Enfin, les trois dates de comptages, nous permettrons de connaître un peu mieux les dynamiques de populations en élevage. Donc pour cet essai, 2 facteurs sont étudiés.

- dose inoculum; 3 objets : 50-200-800 nématodes par flacon
- date de comptage; 3 objets : 9, 12, 15 semaines après inoculation.

4 répétitions par dose et par date sont réalisés.

Le mode de préparation des flacons contenant les disques de carottes ainsi que le mode de récupération des nématodes pour dénombrement est identique à celui décrit dans l'essai 3.

d) Essai 6 : Elevage axénique de *P. brachyurus* sur racines de maïs excisées

Ayant du mal à conserver suffisamment longtemps les disques de carottes après leur inoculation, nous avons essayé un autre support connu pour être hôte de *P. brachyurus*, afin de tester son comportement à long terme.

Le protocole de préparation du milieu et de mise à germination des semences de maïs, est décrit en Annexe 5.

Ensuite, tout comme dans l'essai 3, nous avons fait varier les concentrations de désinfectant des nématodes lors de leur préparation pour l'inoculation, afin de tester par la même occasion l'agent permettant une meilleure conservation.

Il y a 4 objets.

	Chlorure mercurique	Dihydrostreptomycine
A	0,01%	0,2%
B	0,01%	1%
C	0,1%	0,2%
D	0,1%	1%

Les boîtes de Petri contenant les racines excisées de maïs reçoivent 100 nématodes provenant d'élevage. (Photo 7)

On dispose de 4 répétitions/objet. (une boîte de Petri/répétition) Les boîtes de Petri sont mise à 29°C jusqu'à l'apparition des nématodes sur le substrat, et le dénombrement de ces derniers est effectué après un léger broyage des racines et extraction par la technique de centrifugation-flottation.

Notons que pour tous les essais, on dénombre l'ensemble des nématodes (morts ou vivants).

On effectue l'analyse de variance des diverses variables des essais, puis le test de Newman et Keuls au seuil de 5 p.cent pour classer les moyennes en groupes homogènes.



Photo 4 : Culture *in vitro*  
de l'ananas

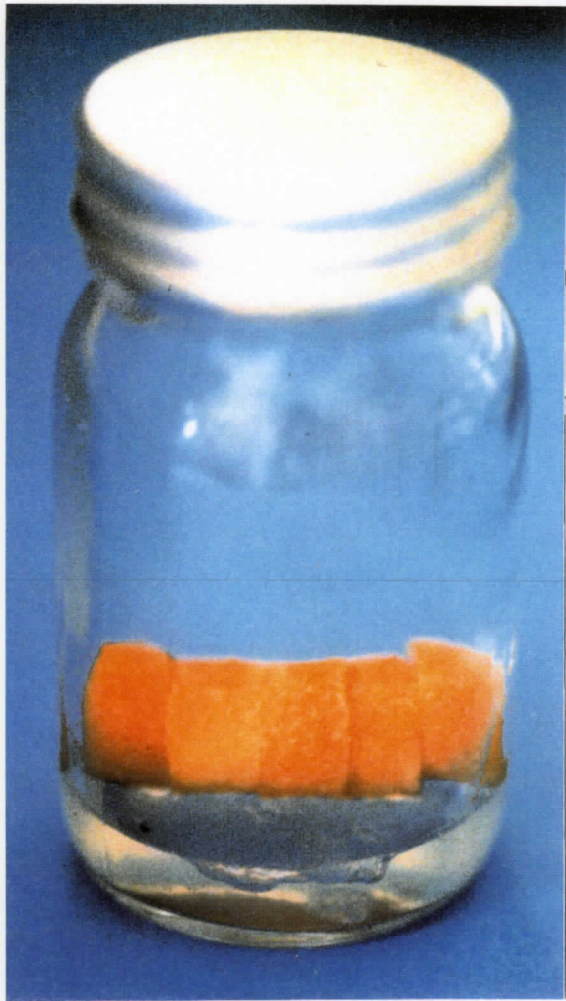


Photo 5  
Elevage axénique de  
*P. brachyurus*  
sur disques de carotte

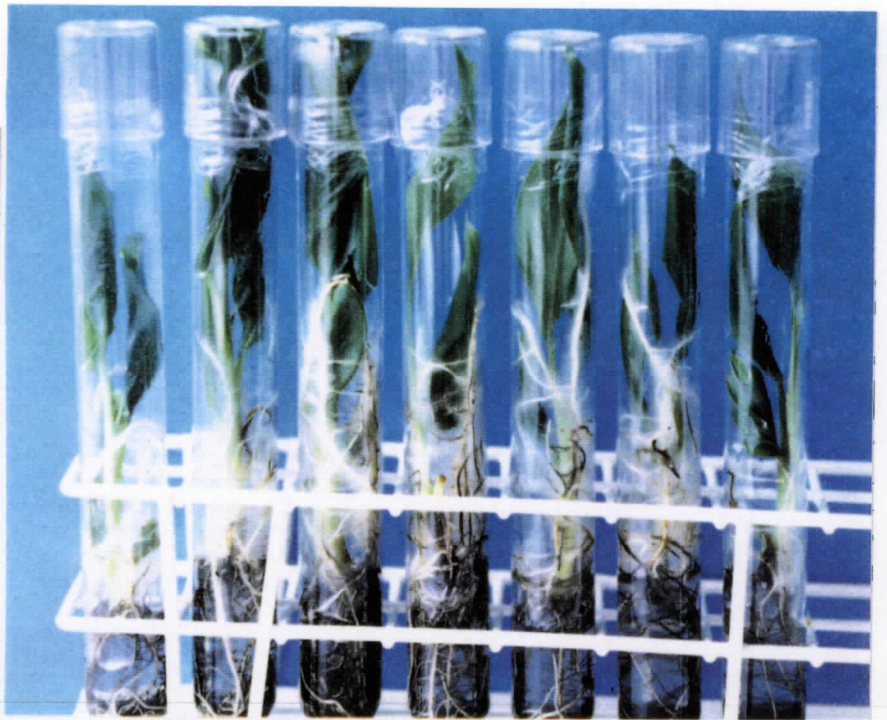


Photo 7  
Elevage de  
*P. brachyurus*  
sur racines  
excisées de maïs



Photo 6  
Vue générale  
de l'essai 2  
au moment de  
l'inoculation

CHAPITRE III : RESULTATS - DISCUSSIONA) RESULTATSa) Essai 1 : Recherche de l'intervalle inoculation - observationTableau 1

Evolution du nombre de nématodes dans les racines et de la croissance de quatre variétés d'ananas

IIO	Variété	M P.A.	M Rac.	Nem.Total	Nem./g
9	VE 129: T	15,3 a	0,4 a	0	0
	i	13,3 b	0,5 a	2427 a	4855 a
	TA 39: T	15,3 a	0,5 a	0	0
	i	13,9 b	0,5 a	1664 a	3329 b
	PH 86: T	19,3 a	0,8 a	0	0
	i	13,8 b	0,6 a	1328 a	2213 c
	VE 88: T	16,9 a	0,4 a	0	0
	i	13,1 b	0,3 a	459 ab	1531 d
14	VE 129: T	24,4 a	0,8 a	0	0
	i	20,6 b	0,7 a	3703 a	5290 a
	TA 39: T	26,5 a	0,9 a	0	0
	i	22,1 b	0,9 a	3703 a	4115 b
	PH 86: T	29,9 a	1,2 a	0	0
	i	28,9 b	1,4 a	4110 a	2936 c
	VE 88: T	31,1 a	0,7 a	0	0
	i	23,4 b	0,6 a	1217 a	2028 d
19	VE 129: T	34,2 bc	1,7 a	0	0
	i	32,7 c	1,1 b	7972 a	7247 a
	TA 39: T	36,4 bc	1,8 a	0	0
	i	26,3 d	1,1 b	5575 b	5068 b
	PH 86: T	38,9 b	2,2 a	0	0
	i	33,6 bc	1,5 b	6090 b	4060 c
	VE 88: T	44,6 a	1,5 a	0	0
	i	30,7 cd	0,9 b	2892 c	3213 d

IIO = Intervalle Inoculation - Observation

T = Témoin ; i = inoculé

M P.A. = Masse des parties aériennes d'un plant (en gramme)

M Rac. = Masse des racines d'un plant (en gramme)

Nem.Total = Nombre total de nématodes dans les racines d'un plant

Nem./g = Nombre de nématodes par gramme de racines

Les groupes du test Newman et Keuls, sont symbolisés par les lettres A, B, C, D.

Dès le premier comptage à 9 semaines, le test statistique fait significativement la distinction entre les quatre variétés pour ce qui est du nombre de nématodes par gramme de racines.

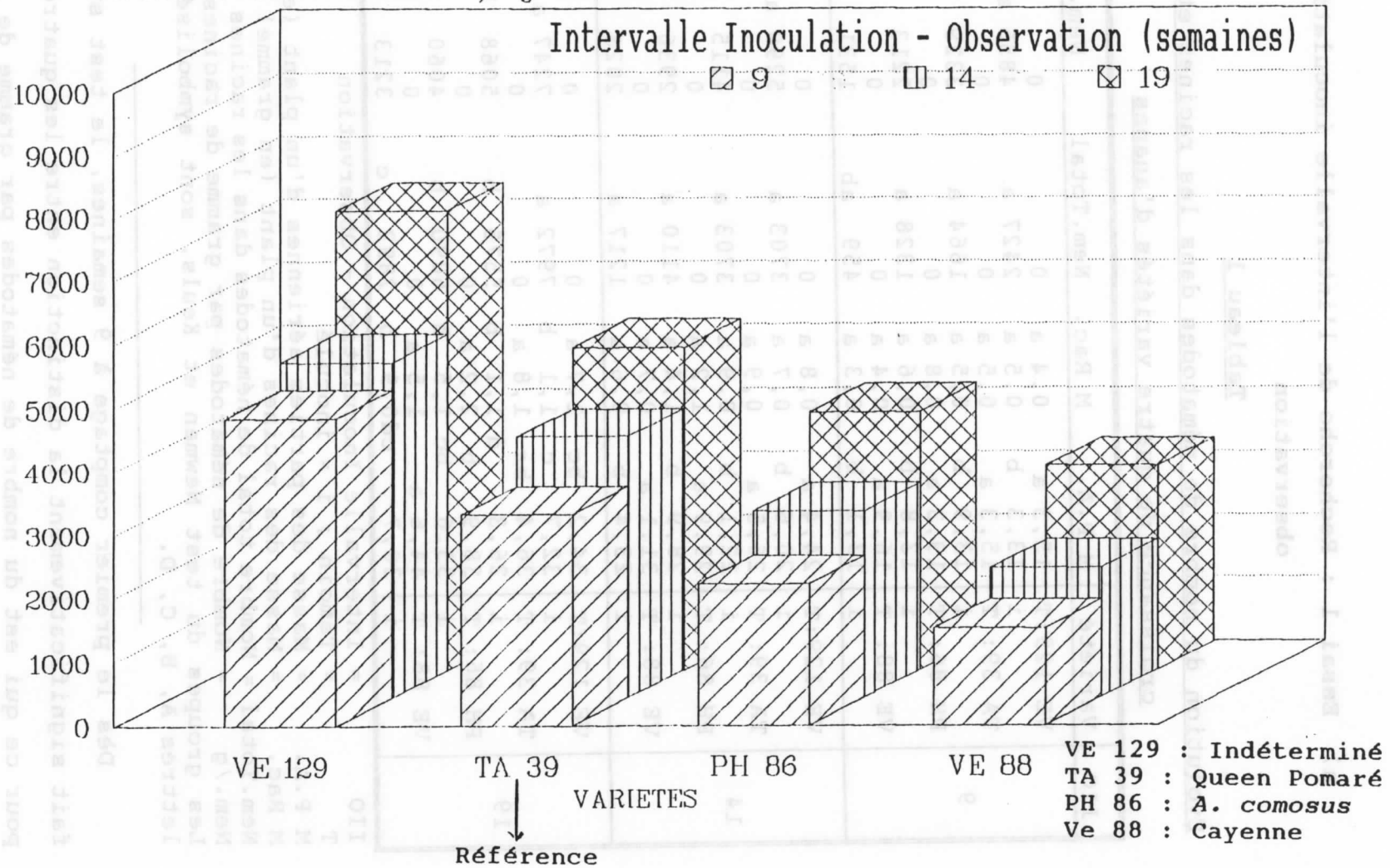


EVOLUTION DES POPULATIONS DE *Pratylenchus brachyurus*  
SELON LES VARIETES INOCULEES

Figure 5

(ESSAI 1)

Nombre de Nématodes / g de racines



La variété VE 129 est la plus sensible à *P. brachyurus*, et est même plus sensible que la référence (TA 39). (cf. Figure 5)

A 14 et 19 semaines, les analyses statistiques confirment les différences significatives entre les quatre variétés pour ce qui est des niveaux d'infestations, et on note que la hiérarchie reste la même au fil des semaines.

Pour chacune des variétés, c'est à 19 semaines que les populations de nématodes sont les plus importantes, ce qui laisse à penser que les racines des quatre variétés ne sont pas toutes colonisées.

L'effet du parasitisme des nématodes sur la croissance des racines ne se fait sentir qu'au troisième comptage, et ce pour chacune des quatre variétés.

Par contre, dès 9 semaines, des différences de croissance des parties aériennes se manifestent entre les plants inoculés et les témoins de chaque variété.

A 19 semaines, pour les variétés VE 88 et TA 39 (Référence), ces différences de croissance des parties aériennes sont même très importantes. Elles sont donc très sensibles.

Mais pour les variétés PH 86 et VE 129, la présence des nématodes, ne s'est pas traduite par une réduction significative de la croissance.

Elles pourraient donc avoir une certaine tolérance vis-à-vis du nématode.

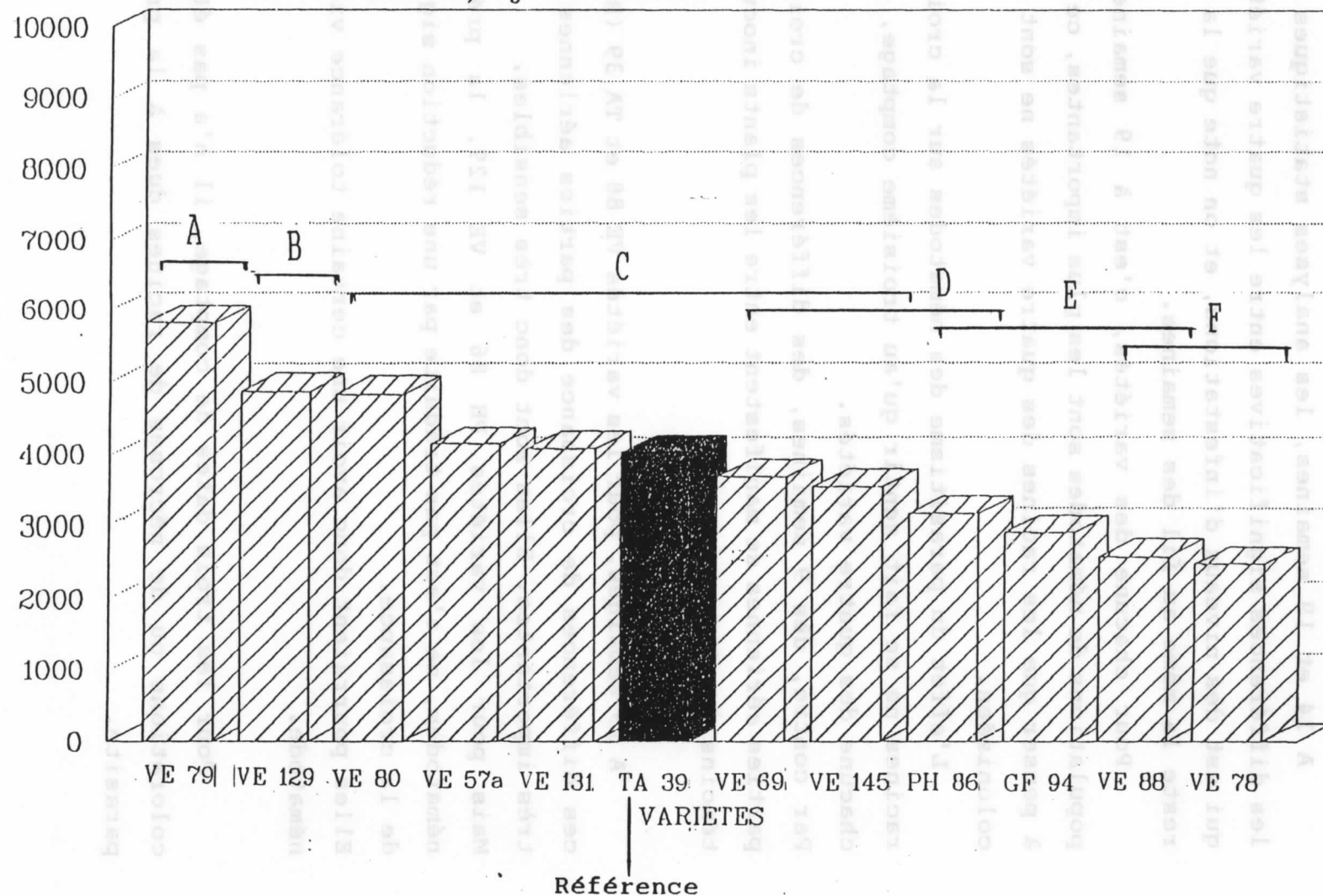
Pour les trois dates de comptage, il n'a pas été noté de colorations ou de nécroses de racines dues à la présence du parasite.

Figure 6

TEST DE CRIBLAGE VARIETAL

(ESSAI 2)

Nombre de Nématodes/ g de racines



## b) Essai 2 : Criblage variétal

Tableau 2

Comportement de 12 variétés d'ananas à l'égard de *P. brachyurus*  
19 semaines après l'inoculation

variété=>	VE 79	VE 129	VE 80	VE 57a	VE 131	TA 39	VE 69	VE 145	PH 86	GF 94	VE 88	VE 78
Masse P.A. Témoin	28a	25,7a	28,5a	26,2a	24,8a	27,4a	28,8a	27,6a	30,1a	29,1a	27,8a	26,4a
Masse P.A. Inoculé	22,5b	20,5 b	23,3 b	20,6 b	20,1 b	23,1 b	20,4b	24,1 b	22,6b	22,7b	19,2 b	21 b
Masse Rac. Témoin	1,5a	1,4a	1,3a	1,3a	1,2a	1,5a	1,3a	1,9a	1,5a	1a	1a	1,2a
Masse Rac. Inoculé	0,8 b	0,9 b	0,9 b	0,8 b	0,9 b	1 b	1 b	1,4 b	1,1 b	0,8b	0,7b	1,1 b
Nem. Total	4657a	4393abc	4350bc	3318 d	3673d	4029bcd	3675cd	4959ab	3481cd	2320ef	1809 f	2724e
Nem./g	5821a	4881b	4834b	4148c	4081c	4029c	3675cd	3542cd	3165de	2900e	2585ef	2477f

Masse P.A. = Masse des parties aériennes d'un plant (en gramme)

Masse Rac. = Masse des racines d'un plant (en gramme)

Nem.Total = Nombre total de nématodes dans les racines d'un plant

Nem./g = Nombre de nématodes par gramme de racines

Les groupes du test Newman et Keuls, sont symbolisés par les lettres A, B, C, D, E, F.

Ce test de criblage montre que toutes les variétés, ont une certaine sensibilité à l'égard de *P. brachyurus*. (cf. Figure 6) Les quatre variétés déjà étudiés dans l'essai 1, se trouvent dans le même ordre dans ce deuxième essai, ce qui montre la fiabilité de ce type d'étude.

L'analyse statistique classe les variétés en six groupes, (pour les variables Nem.Total et Nem./g) dont les limites se recoupent pour certains.

L'analyse statistique révèle aussi des différences significatives de croissance des racines et des parties aériennes entre les plants inoculés et les témoins, et ce, pour chacune des douze variétés testés. (Photo 11 à 13)

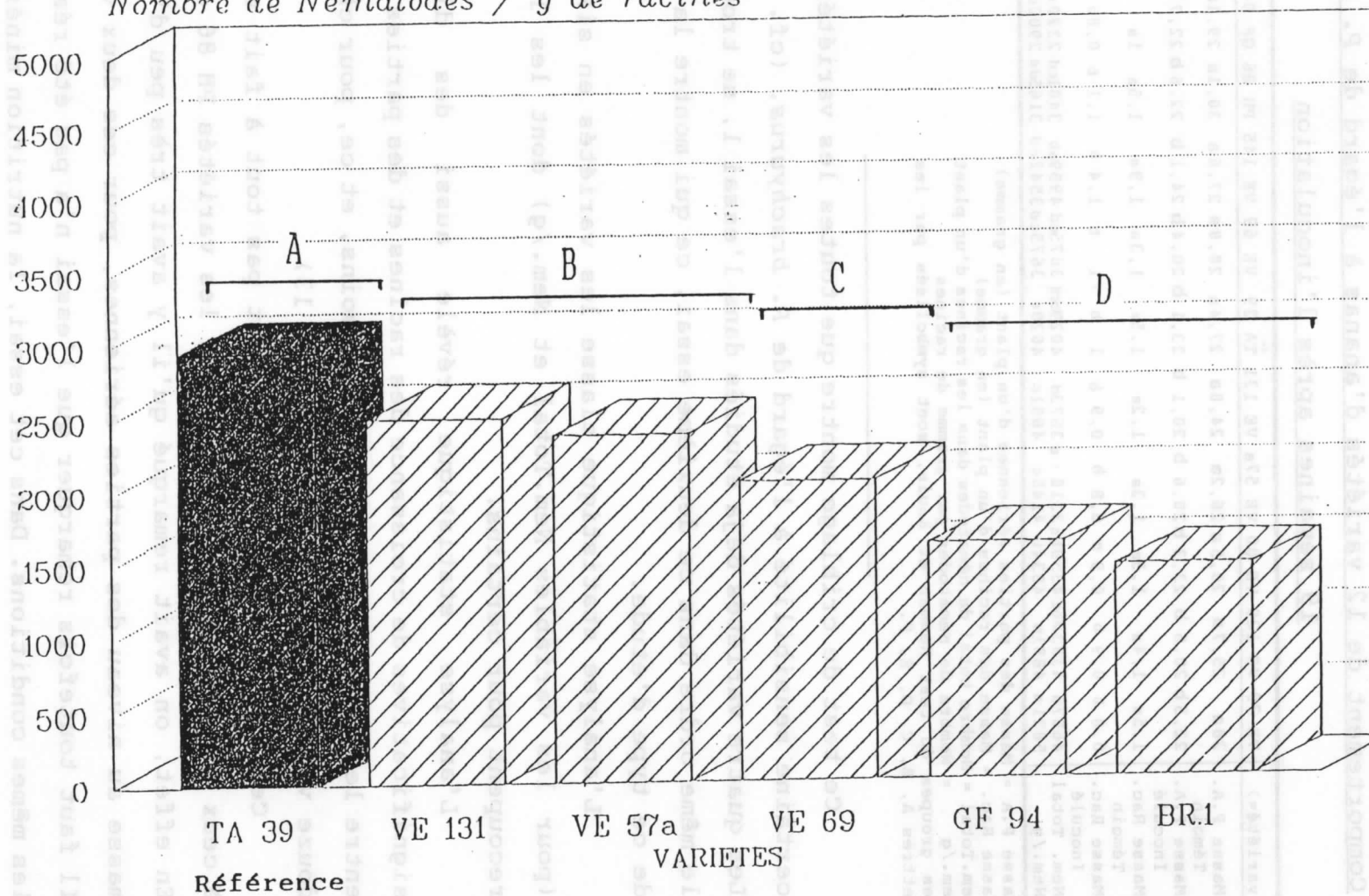
Ces derniers résultats ne sont pas tout à fait semblables à ceux obtenus dans l'essai 1 pour les variétés PH 86 et VE 129. En effet, on avait remarqué qu'il y avait très peu d'écarts de masse au niveau des parties aériennes, pour ces deux variétés. Il faut toutefois remarquer que l'essai n'a pas été réalisé dans les mêmes conditions. Dans cet essai, la nutrition minérale a été supprimée et les volumes d'eau apportés à chaque arrosage,

Figure 7

TEST DE CRIBLAGE VARIETAL  
(ESSAI 2)

Date de comptage : 11 semaines

Nombre de Nématodes / g de racines



réduits, 12 semaines après l'inoculation, ce qui a peut-être influencé l'effet du parasitisme.

Tableau 3

Comparaison de l'effet de *P. brachyurus* sur six variétés d'ananas  
11 semaines après l'inoculation

variété=>	TA 39	VE 131	VE 57a	VE 69	GF 94	BR 1
Masse P.A.	6,3	6,2	11,7	12,8	13,4	12,5
Masse Rac.	0,2	0,3	0,5	0,6	0,7	0,6
Nem. Total	590 c	748 c	1190ab	1231a	1121abc	861bc
Nem./g	2949a	2495 b	2379 b	2051c	1602 d	1436d

Masse P.A = Masse des parties aériennes d'un plant (en gramme)

Masse Rac. = Masse des racines d'un plant (en gramme)

Nem.Total = Nombre total de nématodes dans les racines d'un plant

Nem./g = Nombre de nématodes par gramme de racines

Les groupes du test Newman et Keuls, sont symbolisés par les lettres A, B, C, D.

Ce test confirme la sensibilité à l'égard du nématode des variétés étudiés lors du premier criblage. (cf. Figure 7)

La variété BR 1 est la moins sensible, mais l'essai ne comportant pas le facteur dose d'inoculum, l'éventuel caractère de tolérance de cette variété ne peut être appréciée, par comparaison des masses des plants inoculés et des témoins.

Pour ce deuxième test de criblage, l'inoculation a été réalisée sur des plants qui étaient encore en culture *in vitro* deux semaines plus tôt.

Malgré la réduction d'une semaine de l'intervalle sevrage-inoculation, la sensibilité des variétés testés lors du premier criblage est vérifiée.

En effet, l'inoculation de plants plus jeunes, disposant de moins de racines, n'a pas modifié (dans le deuxième criblage) le développement des nématodes sur les diverses variétés utilisés lors du premier criblage.

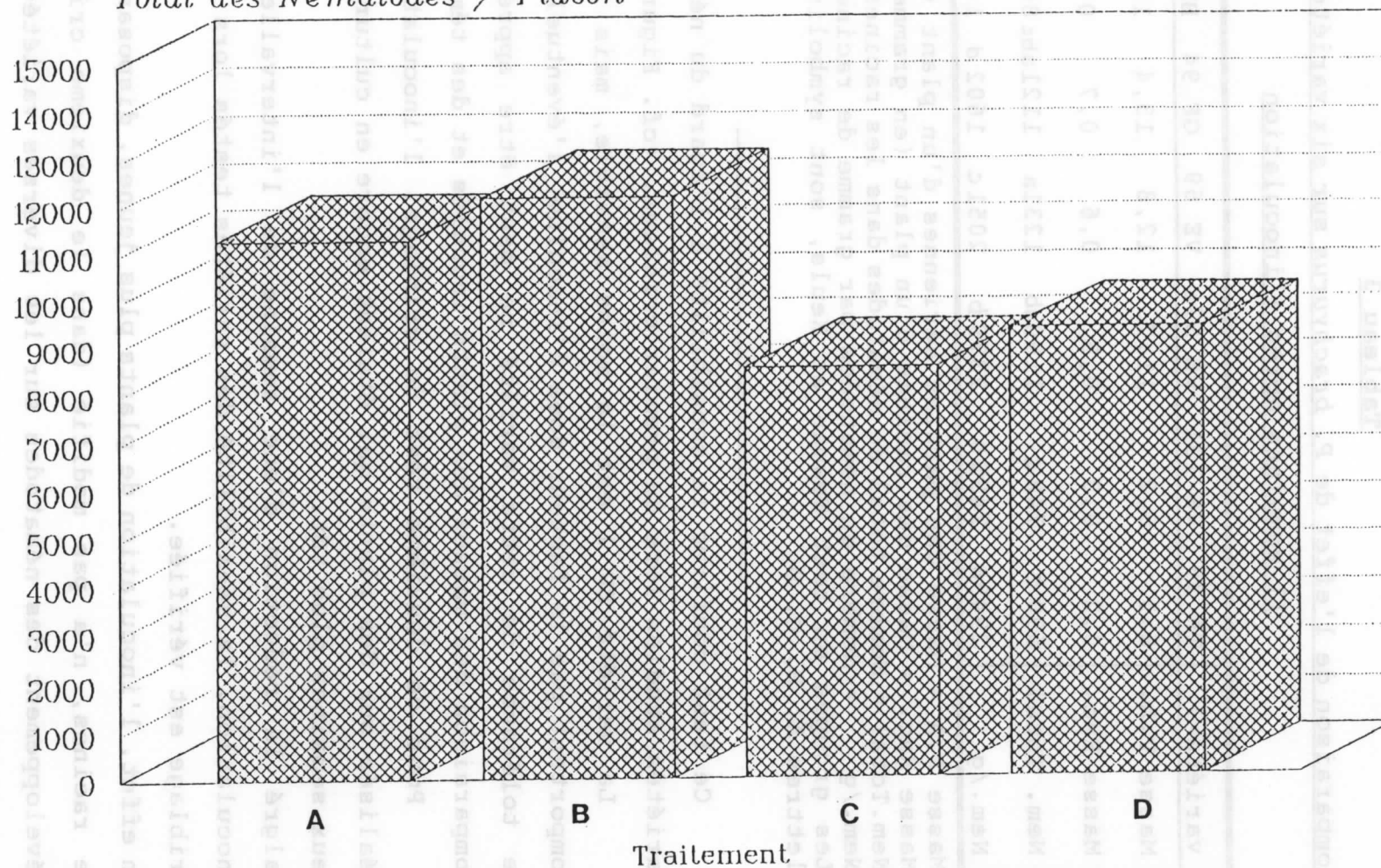


Figure 8

DOSE DE DESINFECTANT DES NEMATODES  
POUR ELEVAGE SUR CAROTTES

Duree d'incubation : 9 semaines

Total des Nématodes / Flacon





## c) Essai 3 : Désinfection des nématodes

Les nématodes sont apparus au bout de neuf semaines d'incubation sur les parois des flacons (quel que soit le traitement), et les comptages ont eu lieu trois jours plus tard.

Tableau 4

Nombre de nématodes récupérés par flacon d'élevage suivant la concentration des désinfectants

traitement =>	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B
lavage des parois	660	800	1967	617	630	846	890	625	1120	1351
broyats de carotte	5992	16100	8544	6500	13580	10874	6800	8519	11948	13818
gélose	242	360	107	184	218	1578	530	231	532	1203
Total	6894	17260	10618	7301	14428	13298	8220	9375	13600	16552
Moyenne	11300,2					12209				

traitement =>	C	C	C	C	C	D	D	D	D	D
lavage des parois	150	625	836	427	923	190	174	475	712	323
broyats de carotte	4650	4900	8708	9292	9308	8600	8080	10930	9178	5816
gélose	261	911	1025	231	503	468	391	647	429	312
Total	5061	6436	10569	9950	10734	9258	8645	12052	10319	6451
Moyenne	8550					9345				

	Chlorure mercurique	Dihydrostreptomycine
A	0,01%	0,2%
B	0,01%	1%
C	0,1%	0,2%
D	0,1%	1%

Il n'y a pas eu d'effet drastique des désinfectants, car dans tous les cas, les nématodes se sont bien multipliés. Toutefois, c'est dans les traitements A et B qui utilisent le moins de chlorure mercurique que le nombre de nématodes récupérés est le plus important, bien que l'analyse statistique ne permette pas de différencier les quatre traitements.

On constate que contrairement au nématode du bananier, (*Radopholus similis* (Cobb, 1893)), *Pratylenchus brachyurus* a tendance à rester dans les rondelles de carottes, car on en

recupère très peu par lavage des parois.

Tous les nématodes récupérés par lavage des parois sont actifs.

Ce n'est pas le cas pour ceux récupérés des broyats de carottes et de la gélose, car lors de l'extraction, le tamisage et le sulfate de magnésium (solution hypertonique) sont à l'origine d'un certain nombre de pertes.

40 à 45 p.cent des nématodes extraits des carottes sont immobiles ou morts, de même que 60 p.cent de ceux extraits de la gélose. Cette différence de pourcentage entre la gélose et les carottes s'explique par l'asphyxie des nématodes dans la gélose.

Pour ce qui est de l'état des carottes au moment du comptage, on a :

<u>Traitement</u>	<u>Aspect des carottes</u>
A	quelques petites lésions brunâtres
B	meilleure consistance que dans la traitement A
C	état excellent des carottes
D	état satisfaisant

C'est dans le traitement C que l'état des carottes est le meilleur, mais c'est aussi dans ce traitement, que la multiplication des nématodes est la moins élevée.

Cela peut donc expliquer une dégradation plus lente des carottes.

Même si les différences entre les traitements ne sont pas significatives, il semblerait que l'effet toxique du chlorure mercurique apparait à forte concentration (0,1 p.cent - traitement C et D). (cf. Figure 8)

Par opposition, la dihydrostreptomycine a un effet positif, car on récupère plus de nématodes dans le traitement B que dans les autres.

d) **Essai 4 : Comparaison de deux méthodes de préparation de carottes pour élevage de nématodes**

Cet essai montre des différences hautement significatives puisque l'on ne récupère pratiquement aucun nématode dans le traitement où la préparation des carottes fait intervenir de l'eau de javel.

**Tableau 5**  
Nombre de nématodes récupérés/flacon suivant  
le traitement des carottes

	méthode habituelle de préparation des carottes					méthode de préparation des carottes faisant intervenir de l'hypochlorite de sodium				
répétition =>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
lavage des parois	620	1430	1000	840	730	0	0	0	0	0
broyats de carotte	7534	11600	8604	9040	6891	1	6	4	4	3
gélose	270	422	122	250	219	0	0	0	0	0
Total	8424	13452	9726	10130	7940	1	6	4	4	3
Moyenne	9934,4					3,6				

De plus, le temps nécessaire à la préparation des carottes à placer dans les flacons est quatre fois plus important pour ce même traitement, par rapport à la méthode classique de préparation des carottes.

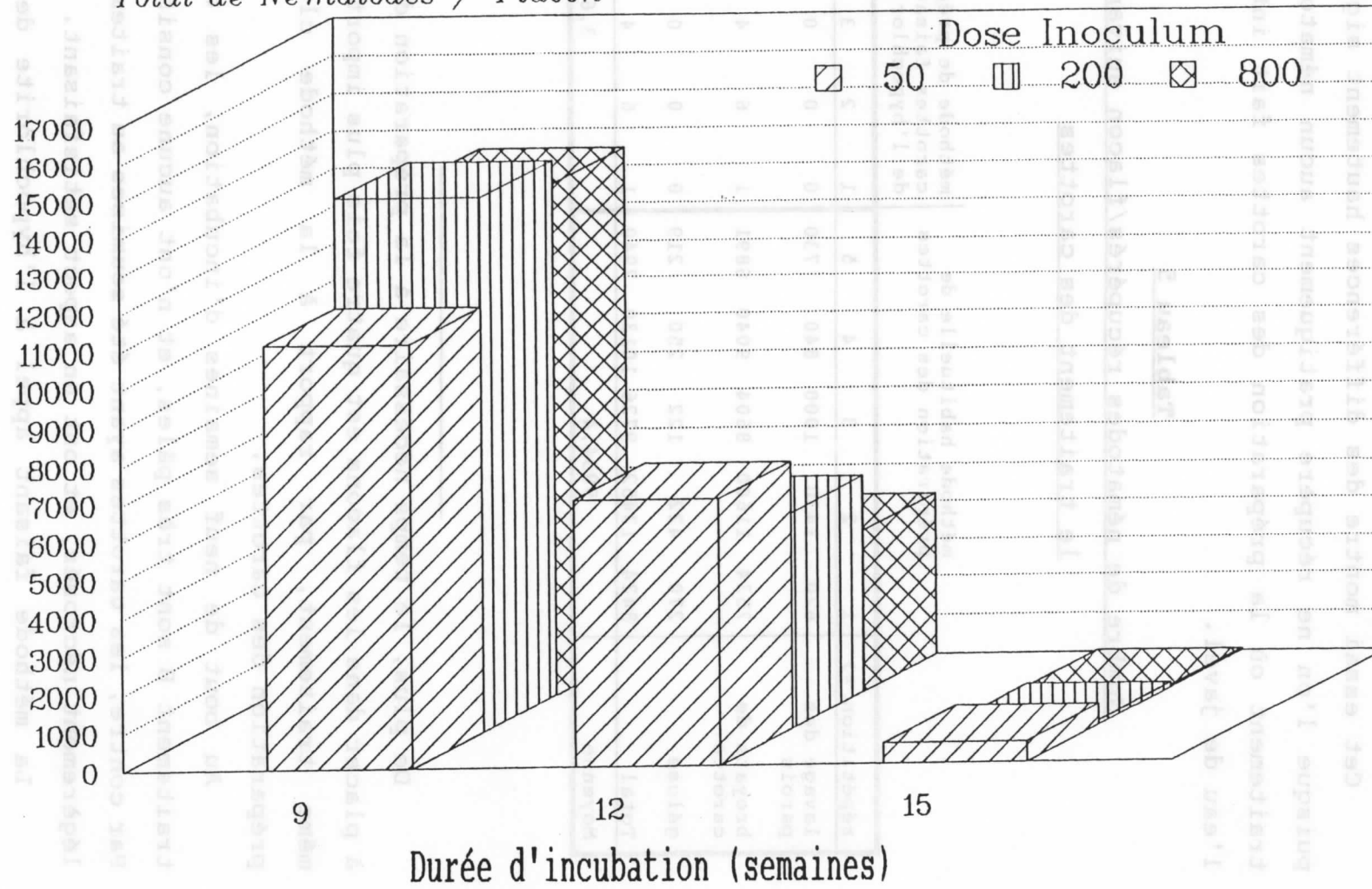
Au bout de neuf semaines d'incubation, les carottes du traitement B sont très pâles, et n'ont aucune consistance. Par contre, les carottes ayant été soumises au traitement A, sont légèrement nécrosés, et ont un aspect satisfaisant.

La méthode faisant appel à l'hypochlorite de sodium ne convient donc pas à la désinfection des carottes.

Figure 9

# TEST DE DOSES D'INOCULUM POUR ELEVAGE AXENIQUE DE NEMATODES SUR CAROTTES

Total de Nématodes / Flacon



e) Essai 5 : Test de doses d'inoculum pour élevage de  
nématodes sur carottes

Les premiers nématodes sont apparus sur les parois de tous les flacons à la fin de la huitième semaine.

Tableau 6

Dynamique des populations de *P. brachyurus* en élevage sur  
carottes suivant la dose d'inoculum

Date de comptage : 9 semaines				12 semaines			15 semaines		
Nombre de nématodes inoculés =>	50	200	800	50	200	800	50	200	800
lavage des parois	1315	1425	1327	462	220	125	0	0	0
broyats de carotte	9351	10638	10343	6294	5040	3508	545	115	55
gélose	468	2039	1816	271	280	561	0	0	0
Total	11134	14102	13486	7027	5640	4194	545	115	55

\* Lors du dénombrement à 9 semaines, même si l'on récupère plus de nématodes avec un inoculum initial de 200 nématodes (cf. Figure 9), l'analyse statistique ne fait pas apparaître de différences significatives.

Avec l'augmentation de la dose d'inoculum, l'état des carottes est de moins en moins bon.

Pour ce qui est de la distribution des nématodes dans les flacons, comme pour l'essai 3, on constate très nettement que *P. brachyurus* est prépondérant dans les rondelles de carottes.

Quelle que soit la dose d'inoculum, le nombre de nématodes récupérés par lavage des parois ne varie pas beaucoup.

Comme pour l'essai 3, plus de 60 p.cent des nématodes extraits des carottes sont mobiles contre 40 p.cent pour ceux extraits de la gélose.

On note toujours 100 p.cent de vivants sur les parois.

\* Dénombrement à l'issue de 12 semaines d'incubation

A cette date, il y a plus de nématodes récupérés lorsque l'inoculum initial est de 50 nématodes, mais le test statistique ne fait pas apparaître de différences significatives.

Moins l'état des carottes est satisfaisant, plus le nombre de nématodes récupérés est faible.

Comme lors du premier comptage, plus la dose d'inoculum est importante, moins l'état des carottes est bon.

On peut donc penser que les nématodes plus nombreux au départ, ont détruit plus rapidement les disques de carottes.

Récupérer les nématodes, 12 semaines après l'inoculation, est déjà trop tard, car il y a peu de nématodes sur les parois, ce qui est pourtant très intéressant.

En effet, par lavage des parois, on procède à une récupération rapide d'un inoculum, en conditions stériles.

50 p.cent des nématodes extraits des carottes sont mobiles. Seulement 30 p.cent de ceux extraits de la gélose sont dans ce cas.

\* Dénombrement à l'issue de 15 semaines d'incubation

Très peu de nématodes sont collectés à cette date. C'est avec 50 nématodes d'inoculum initial que l'on extrait le plus de nématodes, et les différences sont significatives avec les deux autres objets.

Le début de liquéfaction des carottes peut expliquer le peu de nématodes retrouvés au moment du comptage.

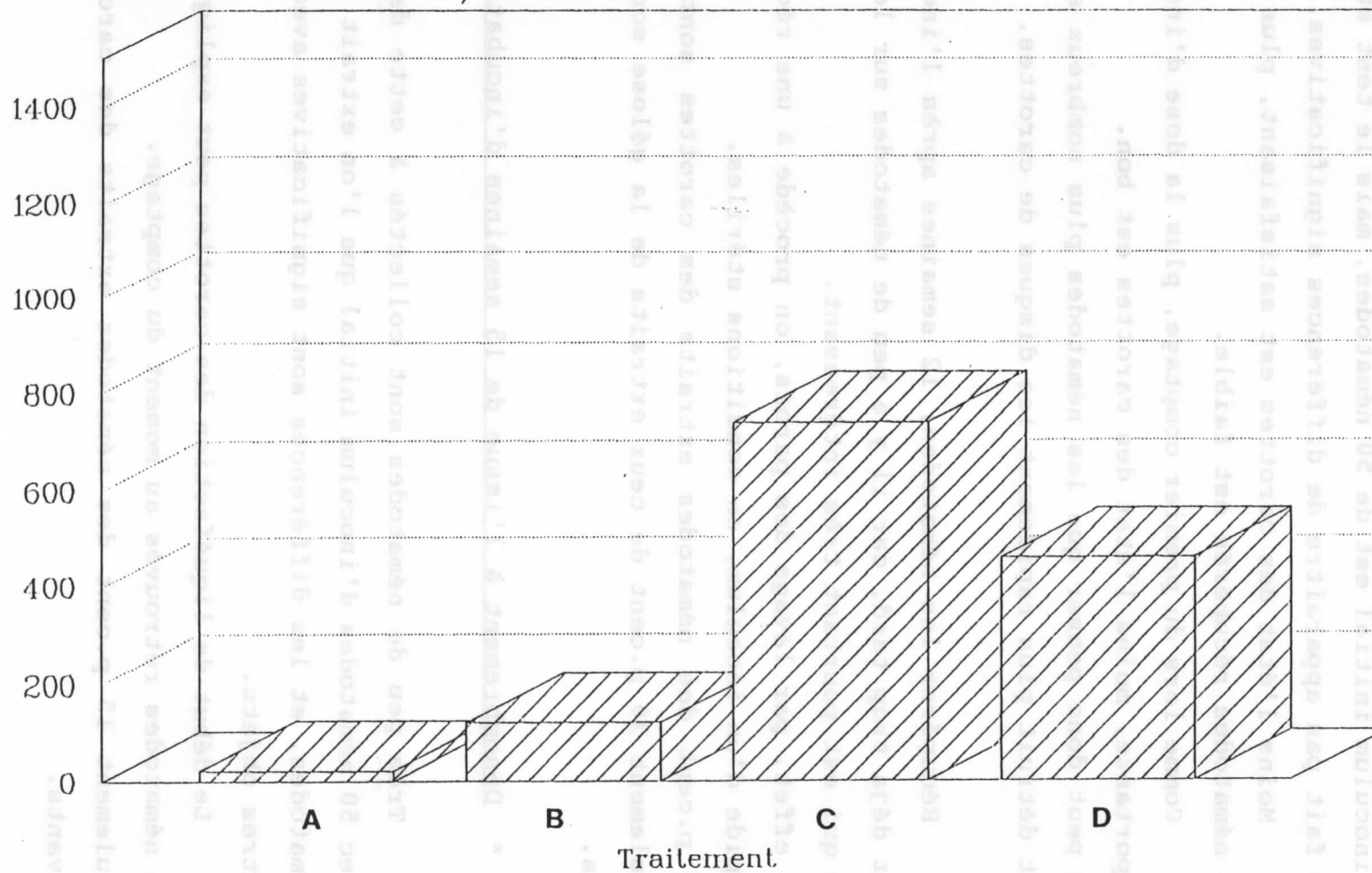
Seulement 15 p.cent des nématodes extraits des carottes sont vivants.

Figure 10

DOSE DE DESINFECTANT DES NEMATODES POUR ELEVAGE SUR RACINES DE MAIS

Date de comptage : 10 semaines

Total des Nématodes / Boite de Petri





f) Essai 6 : Elevage axénique *P. brachyurus* sur racines de maïs excisées

Les premiers nématodes sont apparus en surface des racines à la fin de la neuvième semaine. Les comptages ont été effectués deux jours plus tard, et ont données les résultats ci après :

Tableau 7

Nombre de nématodes dans les racines et dans la gélose

Traitement =>	A	B	C	D
Répétitions				
1	40	160	1240	323
2	20	92	440	390
3	16	71	680	500
4	11	167	597	627
Moyenne	22	122	739	460

	Chlorure mercurique	Dihydrostreptomycine
A	0,01%	0,2%
B	0,01%	1%
C	0,1%	0,2%
D	0,1%	1%

Pour les traitements B et C, des nématodes sont visibles dans la gélose, mais il n'a pas été possible de procéder à leur extraction séparée de ceux des racines.

Les lésions dues à *Pratylenchus brachyurus* sont nettement visibles aux points d'infection, mais mis à part ces petites nécroses brunâtres, les racines sont dans un excellent état.

L'analyse des résultats permet de séparer deux groupes. Pour celui où la dose de chlorure mercurique est élevée (C et D), il y a un meilleur développement des nématodes. (cf. Figure 10) Ceci est corrélié avec des contaminations très importantes du milieu (pour les traitements A et B), par des champignons.



Photo 8  
Vue partielle  
de l'essai 1  
19 semaines après  
l'inoculation

Photo 9  
Vue partielle  
de l'essai 2  
19 semaines après  
l'inoculation

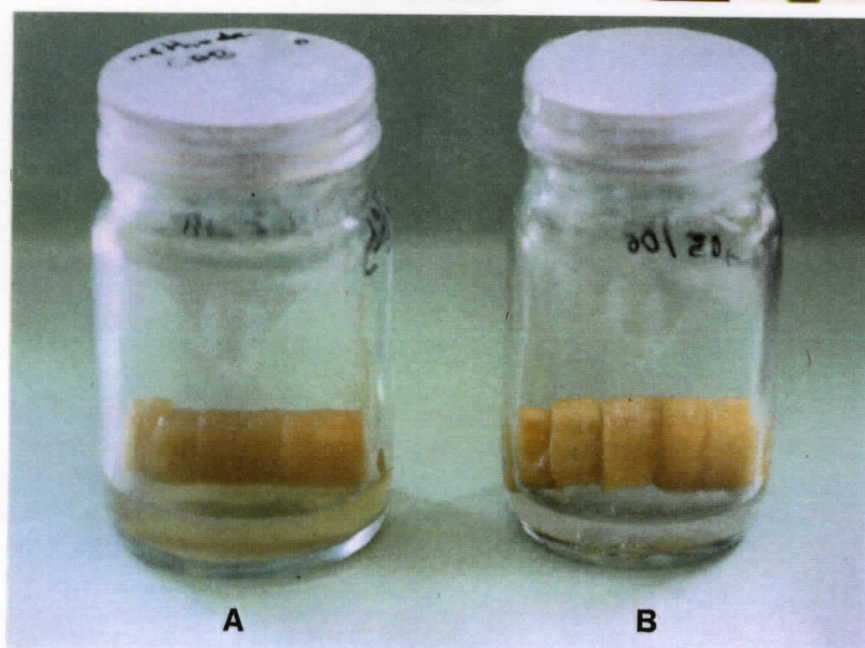
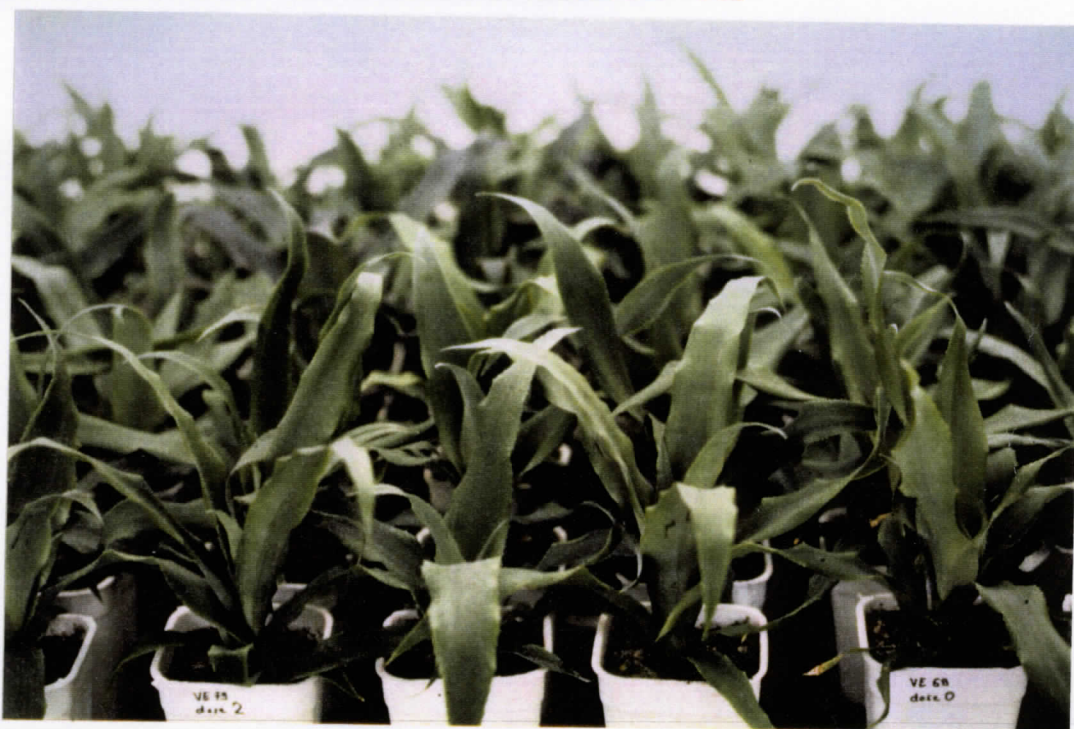


Photo 10  
Comparaison de deux  
méthodes de préparation  
de carottes pour élevage  
de nématodes  
(A = méthode faisant appel  
à l'hypochlorite de sodium.  
B = méthode habituelle)

Les champignons incriminés, sont des *Aspergillus*.

Par contre, pour les traitements C et D, on ne constate aucune contamination.

En multipliant par dix la concentration de chlorure mercurique, comme c'est le cas pour les traitements C et D, l'élevage des nématodes sur racines de maïs est possible. Donc, l'accroissement de la concentration de chlorure mercurique est primordial pour la désinfection des nématodes dans ce type d'élevage.

## B) DISCUSSION

### 1) Modalités du criblage variétal précoce

Pour les expérimentations du même type réalisées précédemment (MESNILDREY, 1990), l'inoculation avait été effectuée un mois après le sevrage, car on pensait que le peu de racines dont dispose les vitroplants pourrait entraîner des erreurs de jugement, concernant la sensibilité des plantes.

En effet, une inoculation très précoce pourrait masquer des éventuels caractères de tolérance, car beaucoup de nématodes en présence de peu de racines, risque de provoquer les mêmes dégâts que ce soit sur des plantes tolérantes ou sensibles.

Mais en effectuant des inoculations trois semaines, puis deux semaines après le sevrage, on a pu se rendre compte que le développement des nématodes inoculés à deux dates différentes, sur des mêmes variétés, est analogue.

La courte durée séparant le sevrage de l'inoculation, ne semble donc pas constituer un facteur limitant. Cet état de fait, peut nous inciter à réduire encore cet intervalle de temps à une semaine pour accélérer le criblage.

Il faut cependant se garder une marge d'une semaine pour s'assurer de la viabilité des jeunes plants.



Photo 11

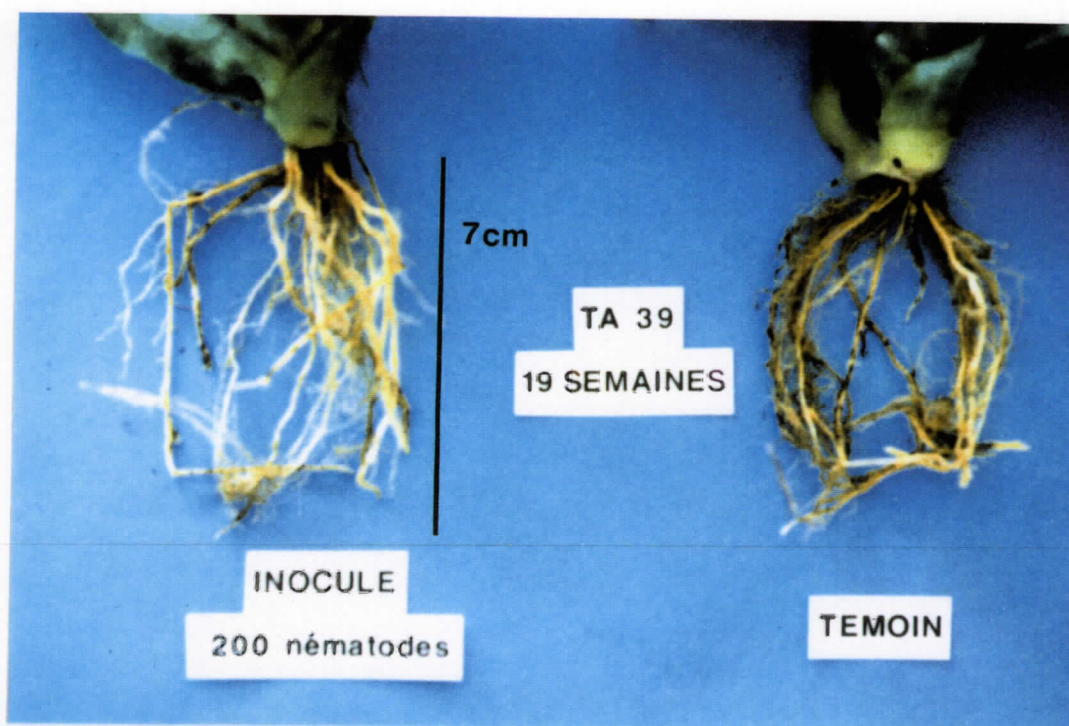


Photo 12



Photo 13

Aspect de plants de l'essai 2 au moment de l'extraction, des nématodes. (19 semaines après l'inoculation)



MESNILDREY (1990), a montré que les nématodes provenant d'élevages axéniques de carottes ont un fort potentiel infestant, ce qui explique le nombre important de nématodes extraits des racines d'ananas.

Mais, si l'on compare le nombre de nématodes récupérés au cours de ces essais, et ceux dénombrés lors des expérimentations menées au laboratoire en 1990, on constate que les chiffres obtenus cette année sont très nettement supérieurs.

La multiplication de l'inoculum par deux, ne semble pas pouvoir à lui seul permettre un tel accroissement des populations.

Cela est donc peut-être dû au fait qu'entre le moment où les nématodes servant d'inoculum, ont été extraits des carottes (par décantation sur papier absorbant avec apport constant d'air), et l'instant où ils ont été inoculés, il s'est écoulé deux ou trois jours durant lesquels ils ont été oxygénés (ce qui n'était pas le cas lors des études précédentes).

Ceci pourrait expliquer alors, une vigueur plus importante des parasites lors de l'inoculation.

La dose de 200 nématodes par plant a été décidée pour avoir des réponses rapides, c'est à dire, pour que la distinction entre les variétés sensibles et les tolérantes aient lieu plus rapidement

En effet, les plantes sensibles, infectées par un grand nombre de nématodes, subissent plus vite les dégâts du parasite. Par contre, pour des plantes dites tolérantes, qui sont capables de mieux supporter les contraintes engendrées par le nématode, les différences de croissance sont beaucoup plus longues à venir.

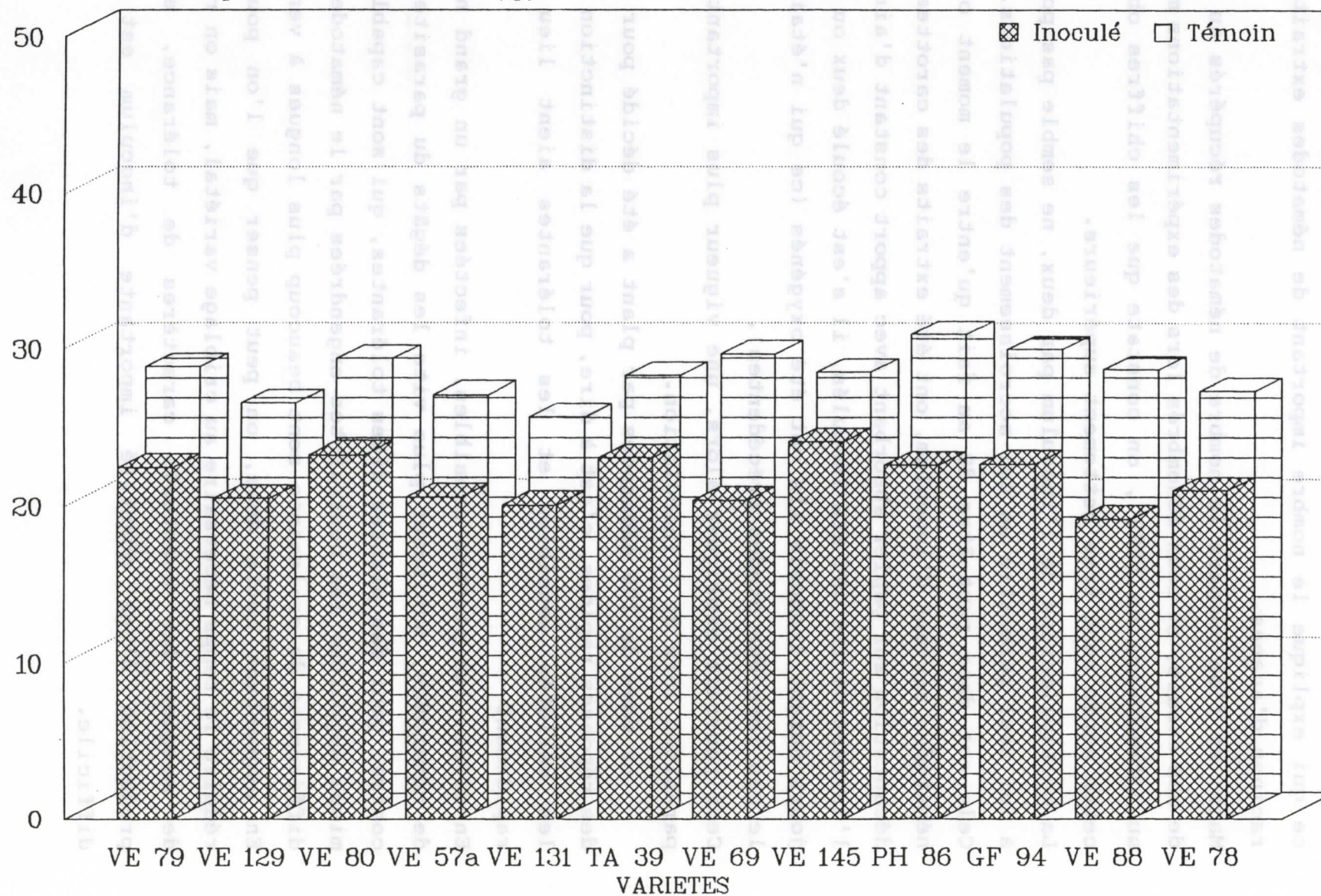
En augmentant cette dose, on peut penser que l'on pourrait réduire le temps nécessaire au criblage variétal, mais on risque de masquer les éventuels caractères de tolérance, et la production d'une quantité importante d'inoculum est plus difficile.

Figure 11

(ESSAI 2)

TEST DE CRIBLAGE VARIETAL

Masse des parties aériennes (g)



Ordre décroissant d'infestation →



A 9 semaines, l'essai 1 ne fait pas apparaître de différences de masses de racines entre les témoins et les plants inoculés, alors qu'il fait la distinction lorsqu'il s'agit des parties aériennes. Les nématodes attaquant les racines, il aurait été plus logique que se soit le contraire.

En fait, les masses racinaires sont très faibles à cette date, de sorte que la variabilité est importante. Pour faire la distinction entre des plantes sensibles et tolérantes, il est donc préférable de s'intéresser à la masse des parties aériennes. Dans cet essai 1, c'est à 19 semaines que les deux variétés semblant montrer un caractère de tolérance (VE 129 et PH 86), ont pu être révélées.

La variété PH 86, est celle qui a le plus de racines. Cela peut expliquer qu'elle soit la moins sensible.

Par contre, on a vu que la variété VE 88, est la plus sensible, car c'est pour cette variété que la différence de masse des parties aériennes sont les plus importantes entre les témoins et les plants inoculés.

C'est aussi la variété qui a montré le moins de racines parmi les témoins. Cela pourrait expliquer aussi sa sensibilité à *P. brachyurus*.

En supprimant l'apport d'engrais et en réduisant le volume d'eau apporté à chaque arrosage (essai 2), on a entraîné une réduction de croissance des plants, car à dix neuf semaines, les variétés utilisées dans l'essai 1 sont beaucoup plus grandes que les mêmes variétés présentes dans l'essai 2.

Ce même essai indique que toutes les variétés sont sensibles, même les variétés PH 86 et VE 129 étudiés dans l'essai 1.

Cela est d'ailleurs très visible, si l'on se reporte à la Figure 11.

Tableau 8

<sup>2</sup> Masse des parties aériennes des plants inoculés,  
en pourcent des non inoculés

Variété <sup>1</sup>	VE 79	VE 129	VE 80	VE 57a	VE 131	TA 39	VE 69	VE 145	PH 86	GF 94	VE 88	VE 78
M.P.A.i % <sup>2</sup>	80,3	79,8	81,7	78,6	81	84,3	73,9	87,3	75,1	78	69,1	79,5
M.P.A.T												

<sup>1</sup> classées par ordre décroissant d'infestation

Le tableau 8, nous indique que les variétés les plus infestées ne sont pas celles qui grandissent le moins vite, de sorte que l'on peut dire que les variables infestation et potentiel de croissance des plantes semblent indépendantes.

La contradiction avec l'essai 1 (pour ce qui est de la possible tolérance des variétés PH 86 et VE 129) peut s'expliquer par le fait, qu'en supprimant la nutrition minérale, les plantes se trouvent dans de moins bonnes conditions, et l'effet du parasitisme est beaucoup plus marqué.

Les plants ayant beaucoup plus de mal à contrer le parasite, le caractère de tolérance disparaît.

En procédant comme dans l'essai 2, le criblage variétal est beaucoup plus restrictif.

## 2) Conditions d'élevage de *P. brachyurus* sur disques de carotte

9 semaines semblent être la date optimale pour l'extraction des nématodes, car une fois les nématodes apparus sur les parois, leur nombre ne cesse de décroître.

Il serait intéressant de réaliser un essai similaire à l'essai 5, où les dénombrements seraient réalisés avant 9 semaines, pour mieux apprécier les dynamiques de populations.

L'essai montre aussi qu'un inoculum de 50 nématodes est suffisant pour récupérer un grand nombre de nématodes. Cela permet donc d'inoculer un plus grand nombre de flacons avec un nombre de nématodes donné.

L'essai indique qu'avec un inoculum plus conséquent, le nombre de nématodes récupérés ne se trouve guère modifié, mais cela est peut-être dû aux facteurs limitants que sont les dimensions des carottes.

Avec des flacons de plus grande taille, il est possible que les populations de nématodes puissent se développer plus abondamment. Une dose d'inoculum élevée pourrait donc s'avérer intéressante, et ce pour deux raisons : récupération probable d'un plus grand nombre de nématodes, et ce peut-être plus précocement.

Par contre, il y a deux limites à la réalisation d'un élevage avec ces nouvelles conditions : l'encombrement des flacons de grandes tailles dans les étuves, ainsi que des quantités plus importantes de nématodes nécessaire à l'inoculation de ces carottes plus volumineuses.

L'essai avec différentes doses de désinfectants de nématodes, indique que le chlorure mercurique semble avoir un effet défavorable sur la reproduction de *P. brachyurus*.

Pour s'en assurer, il aurait fallu que l'essai 3 comporte un autre facteur : la durée d'incubation.

En effet, il est possible qu'une fois l'effet de la désinfection par le chlorure mercurique passée, les nématodes puissent se développer de façon similaire à ceux ayant subis le traitement A ou B, ou même mieux, mais avec un certain retard.

Les carottes étant dans un meilleur état lorsque les nématodes sont désinfectés avec du chlorure mercurique en plus forte concentration, elles peuvent être conservés plus longtemps. Ainsi, un dénombrement plus tardif est possible. Donc, un comptage à 12 semaines pourrait apporter des éléments de réponse concernant les dynamiques de populations de nématodes désinfectés en particulier avec du chlorure mercurique à 0,1 p.cent.

Cette méthodologie pourrait être alors utilisée lorsque l'on désire un usage plus lointain de l'élevage.

Pour ce qui est du mode de préparation des disques de carottes, on a vu que la méthode où l'on fait intervenir de l'hypochlorite de sodium (traitement B), a des effets trop négatifs sur les carottes.

Un tel résultat dans le traitement B peut s'expliquer par une perte de pouvoir attractif pour les nématodes :

- soit lorsque les rondelles de carottes sont flambées une à une,
- soit parce que l'hypochlorite de sodium est utilisé à une concentration trop importante, car même après dix rincages à l'eau stérile, une odeur prononcée d'eau de javel persiste pendant la durée d'incubation.

Le deuxième point paraît le plus probable, car l'état déliquéscent des carottes dans le traitement B, semble indiquer une destruction des tissus des carottes par l'eau de javel.

Il y a aussi peut-être un effet toxique direct de l'eau de javel sur les nématodes.

### 3) Intérêt de la culture axénique de *P. brachyurus* sur racines de maïs

Avec cette technique d'élevage, le nombre de nématodes extraits est plus de dix fois inférieur à celui de l'élevage sur carottes pour une même dose d'inoculum.

Le volume des racines de maïs est très faible, ce qui explique sans doute le développement réduit des nématodes.

Cette technique d'élevage sur racines de maïs ne peut donc être utilisée pour l'élevage de masse.

Par contre, dans la mesure où à dix semaines, les racines de maïs sont dans un excellent état, un essai avec des comptages à 20 ou même 30 semaines pourraient montrer si cette technique peut être utilisée pour la conservation du nématode à long terme. Cette méthode pourrait être alors intéressante pour la constitution d'une banque de nématodes (biotypes), car il y aurait un minimum de repiquages à effectuer.

### CONCLUSION

Les premiers essais ont permis de mieux cerner les modalités du criblage variétal précoce de l'ananas à l'égard de *Pratylenchus brachyurus*.

L'intérêt des plantes issus de multiplication *in vitro* pour la sélection variétale se confirme.

Ces plants sont homogènes, peu encombrants, et les différentes manipulations réalisées pour l'extraction des nématodes sont allégées.

De plus, il est facile de les produire en grand nombre.

Les travaux effectuées sur plantes, montrent que le criblage variétal très précoce est possible.

L'intervalle de temps séparant le sevrage de l'inoculation peut être réduit à deux semaines, sans influencer l'impact des nématodes sur les racines, et un dénombrement des nématodes 9 semaines après l'inoculation, permet déjà de classer les variétés en fonction du développement des populations dans les racines (résistance).

Nous avons également mis en évidence, que ce test précoce, est capable de déceler d'éventuels caractères de tolérance à 19 semaines, car outre les différences de niveaux de populations dans les racines, nous avons montré qu'il existe des différences de croissance entre les plants inoculés et les témoins.

Par ailleurs, la suppression totale en cours d'expérimentation de la nutrition minérale, ainsi que la réduction du volume d'eau apporté à chaque arrosage, ont permis l'accentuation de l'impact du parasitisme.

Enfin, l'élevage axénique des nématodes sur disques de carottes, s'affirme comme étant pour l'instant, la méthode la



plus adaptée pour *P. brachyurus*, mais les conditions optimales de réalisation, ne sont pas encore définies.

Ces tests précoces permettront l'évaluation rapide par criblage, des variétés d'ananas.

Il faudra développer d'autres études pour une meilleure connaissance des relations plante-parasite.

Par la suite, il sera alors possible de préciser les mécanismes physiologiques et le déterminisme génétique de la résistance.

## BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME., 1983. - La culture de l'ananas d'exportation en Côte d'Ivoire. Les Nouvelles Editions Africaines. Document IRFA, 112p.
- ANONYME., 1987. - Spécial Ananas. Fruits, Vol 42, 11, 67p.
- BONCATO (AA)., DAVIDE (RG)., 1980. - Radopholus similis on Cavendish Banana in Davao del Norte. II : Culture and pathogenicity. Phil. Agro, 63, 120-125.
- CASWELL (EP)., SARAH (JL)., APT (J)., 1990. - Pineapple. In Plant Parasitic Nematodes in subtropical and tropical agriculture. Ed Luc, Sikoa et Bridge; CAB. International, Wallingford (GB), 519-537.
- CORBET (DCM)., 1976. - Description of plant parasitic nematodes. Pratylenchus brachyurus. Commonwealth Institute of Helminthology, Set 6, No 89, 4p.
- DOMERGUE (R)., 1990. - Micropropagation in vitro de l'ananas. Réunion annuelle IRFA, Doc 63, 5p.
- DROPKIN (VH)., 1980. - Introduction to plant nematology. Ed Wisley Interscience, 287p.
- FASSULIOTIS (G)., 1987. - Genetic basis of plant resistance to nematodes. In Vistas of nematology. Ed JA Veech & Dickson; Hyattsville (USA), 364-371.
- GAST (RE)., KERR (ED)., WILSON (RG)., 1984. - Lesion nematode (P.spp). Infection of weeds species and Fieldbeans (Phaseolus vulgaris). Weeds sciences, Vol 32, 616-620.
- GODFREY (GR)., 1929. - Phytopathology, 19, 611-629.
- GUEROUT (R)., 1969. - Action des plantes améliorantes en cultures d'ananas. Fruits, Vol 24, 9-10, 436-443.
- HUGON (R)., 1990. - Sensibilité à Pratylenchus brachyurus des différentes variétés d'ananas en Côte d'Ivoire. Réunion annuelle IRFA; Doc 18, 3p.
- HUGON (R)., 1990. - Le point sur la lutte chimique contre les nématodes des ananas en Côte d'Ivoire. Réunion annuelle IRFA, Doc 19, 4p.
- HUGON (R)., MALEZIEUX (E)., 1990. - Impact des nématodes sur le rendement de l'ananas : Essai de quantification. Réunion annuelle IRFA, Doc 28, 12p.
- INAGAKI (H)., POWELL (NT)., 1969. - phytopathology, 59, 1350-1353.
- KAPLAN (DT)., KEEN (NT)., 1980. - Mechanisms conferring plant incompatibility to nematodes. Revue de nematologie, Vol 3, 1, 123-134.
- KAPLAN (DT)., DAVIS (EL)., 1987. - Mechanisms of plant incompatibility with nematodes. In vistas of nematology. Ed JA Veech & Dickson; Hyattsville (USA), 267-276.
- KEETCH (DP)., 1977. - Nematodes in pineapples. Pineapples H, 18, 4p.

- KOENNING (SR)., SCHMITT (DP)., 1985. - Influence of selected cultural practices on winter survival of Pratylenchus brachyurus on soybean yield. Journal of nematology; Vol 17, 4, 464-469.
- LACOEUILHE (JJ)., GUEROUT (R)., 1976. - Action du nématode Pratylenchus brachyurus sur la croissance et les rendements de l'ananas Cayenne lisse; influence de la localisation de la fumure. Fruits, Vol 31, 3, 147-156.
- LINDSEY (DW)., CAIRNS (EJ)., 1971. - Pathogenicity of the lesion nematode Pratylenchus brachyurus, on six soybean cultivars. Journal of nematology, 3, 220-226.
- LUC (M)., DE GUIRAN (G)., 1960. - Les nématodes associés aux plantes de l'Ouest Africain. Agronomie Tropicale, Vol 15, 4, 434-443.
- O'BANNON (JH)., TAYLOR (AL)., 1968. - Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot disc. Phytopathology, 58, 385.
- O'BANNON (JH)., TOMERLIN (AT)., 1970. - P. spp as citrus pathogens. Phytopathology, 60, 1540 (Abstract).
- OWE (MOO)., CORBETT (DCM)., 1976. - Aspects of the biology of Pratylenchus brachyurus and P. zeae. Nematologica, 22, 202-211.
- ONAPITAN (JA)., AMOSU (JO)., 1982. - Pathogenicity of Pratylenchus brachyurus and Helicotylenchus pseudorobustus on sugarcane. Nematologica, 12, 51-60.
- OSSENI (B)., 1985. - Les cultures associées à la culture de l'ananas; action sur le nématode Pratylenchus brachyurus, la croissance et le rendement de l'ananas Cayenne lisse. Fruits, Vol 40, 11, 709-718;
- OSSENI (B)., 1990. - Influence du pH d'un sol ferralitique du sud de la Côte d'Ivoire sous diverses cultures sur le nématode Pratylenchus brachyurus. Réunion annuelle IRFA, Doc 7, 17p.
- PINOCHET (J)., 1988. - Comments on the difficulty in breeding Bananas and plantains for resistance to nematodes. Revue Nematol., Vol 11, 1, 3-5.
- PLOWRIGHT (R)., 1990. - Preparation of carrot disc. CAB International Institute of Parasitology, impub., 5p.
- PY (C)., LACOEUILHE (JJ)., TEISSON (C)., 1984. - L'ananas, sa culture, ses produits. Ed Maisonneuve et Larose, Col. Techniques agricoles et productions tropicales, 564p.
- SARAH (JL)., 1980. - Utilisation de nématicides endothérapeutiques dans la lutte contre Pratylenchus brachyurus; I Activité préventive et curative sur les infestations racinaires par applications foliaires. Fruits, Vol 35, 12, 745-757.
- SARAH (JL)., 1981. - Utilisation de nématicides endothérapeutiques dans la lutte contre Pratylenchus brachyurus; II Effets secondaires d'applications foliaires sur la phase végétative du cycle de développement de l'ananas. Fruits, Vol 36, 5, 275-283.
- SARAH (JL)., 1981. - Utilisation de nématicides endothérapeutiques dans la lutte contre Pratylenchus brachyurus; III Effets secondaires d'applications foliaires sur la réponse au TIF, et sur la floraison. Fruits, Vol 36, 9, 491-900.

- SARAH (JL)., 1983. - Utilisation de nématicides endotherapiques dans la lutte contre Pratylenchus brachyurus; IV Effets secondaires d'applications foliaires sur le développement des plants après le traitement d'induction foliaire et sur la maturité des fruits. Fruits, Vol 38, 7-8, 523-540.
- SARAH (JL)., 1986. - La lutte non chimique contre les nématodes. Réunion annuelle IRFA, Doc 17, 11p.
- SARAH (JL)., 1987. - Influence des traitements nématicides sur la production des rejets d'ananas. Fruits, Vol 42, 2, 71-74.
- SARAH (JL)., 1987. - Utilisation d'une jachère travaillée pour lutter contre les nématodes parasites de l'ananas. Fruits, Vol 42, 6, 357-360.
- SARAH (JL)., 1990. - Dynamique saisonnière des populations de Pratylenchus brachyurus en plantations d'ananas en Côte d'Ivoire. Réunion annuelle IRFA, Doc 32, 15p.
- SARAH (JL)., HUGON (R)., 1991. - Dynamique des populations de Pratylenchus brachyurus en plantations d'ananas en Côte d'Ivoire. Doc. interne IRFA, 15p.
- SIDIQUI (HR)., GOODEY (JB)., 1963. - Nematologica, 9, 363-377.
- SMITH (LB)., 1979. - Bromolioideae. Flora Neotropica, 14, part.3, 2048-2064.
- SOUTHARDS (DJ)., 1968. - Nematropica, 14, 15-16.
- WALLACE (HR)., 1987. - A perception of tolerance. Nematologica, 33, 419-432.

# Annexe 1

Milieux de culture pour la culture in vitro de l'ananas

(D'après DOMERGUE, 1990)

	Milieu 1 Etablissement	Milieu Prolifération	Milieu Croissance
Macro-éléments 100 ml/l	Murashige et Skoog : $\text{NH}_4 \text{NO}_3$ 1,65 g/l $\text{KNO}_3$ 1,90 g/l $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,44 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,37 g/l $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,17 g/l	Murashige et Skoog  idem à M 1	M 3 $\text{KNO}_3$ 2 g/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1 g/l $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0,4 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,37 g/l
Micro-éléments 1 ml/l	$\text{H}_3\text{BO}_3$ 6,2 mg/l $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 22,3 mg/l $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3,6 mg/l $\text{KI}$ 0,83 mg/l $\text{Na MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,25 mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025 mg/l $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,025 mg/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27,8 mg/l $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 37,8 mg/l	idem à M 1	idem à M 1
Saccharose	40 g/l	40 g/l	40 g/l
Agar	7 g/l	ou gelrite 2 g/l	
Vitamines 2 ml/l	de Morel Panthoténate Ca 100 µg Inositol 10 000 µg Nicotinique 100 µg Biamine 100 µg Pyridoxine 100 µg Motine 1 µg + Tyrosine et glutamine à 100 mg/l	idem à M 1     + Tyrosine et glutamine à 100 mg/l	idem à M 1     + Tyrosine et glutamine à 100 mg/l
pH	5,6	5,6	5,6
B A P	2 mg/l	2 mg/l	0
A I A	2 mg/l	0	0



## Annexe 2

(D'après MESNILDREY, 1990)

### Composition de la solution nutritive

Hoagland n°2.

	Solution mère		Solution finale
	g/5 l		ml/10 l
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	115	————→	50
KNO <sub>3</sub>	656	————→	50
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	490	————→	50
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	945	————→	50
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86	} ———→	50
MnCl <sub>2</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	1,81		
CuSO <sub>4</sub> , 5 H <sub>2</sub> O	0,08		
ZnSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	0,25		
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> , 2 H <sub>2</sub> O	0,25		
Fer-EDTA (Séquestrène)	7,5	————→	20
Eau distillée			QSP 10 l

## Annexe 3

### Elevage axénique de Pratylenchus brachyurus sur disques de carotte

**Préparation des flacons :** 10 ml d'une solution d'agar-agar 1% contenant 500 ppm de dihydrostreptomycine ( ajouté après autoclavage ) sont versés sous hotte à flux laminaire, dans des flacons de 100 ml stérilisés au préalable.

**Préparation des carottes ( en conditions stériles ) :** Des carottes sans lésion et nettoyées à l'eau, sont trempées dans de l'alcool à 95° pendant 10 secondes, puis flambées. Elles sont épluchées et découpées en rondelles de 1 à 2 cm d'épaisseur. Cinq à six disques sont déposés dans chaque flacon, sur le milieu gélosé, de manière à ce que les disques ne puissent pas bouger. Les flacons sont alors conservés pendant une semaine à 28°C à l'obscurité pour s'assurer de la stérilité des carottes.

**Désinfection des nématodes (en conditions stériles) :** Les nématodes utilisés peuvent provenir de cultures axéniques ou directement de racines d'ananas infestées. Ils sont placés dans des microtubes ( type Eppendorf ) dans de l'eau stérile. On procède aux opérations suivantes :

- centrifugation 3 min. à 3000 tours/mn
- élimination du surnageant
- culot remis en suspension dans une solution de chlorure mercurique à 0.01% ( 100 ppm )
- centrifugation 3 min. à 3000 tours/mn
- élimination du surnageant
- culot remis en suspension dans une solution de dihydrostreptomycine à 2 g/l ( 200 ppm )
- élimination du surnageant
- rinçage et centrifugation 2 fois dans de l'eau stérile.

**Inoculation sur carottes ( en condition stérile ) :** quatre à cinq gouttes de la suspension de nématodes désinfectés sont déposées sur les disques de carotte.

## Annexe 4

### Méthode d'extraction des nématodes à partir des racines d'ananas

- Les racines sont soigneusement nettoyées, puis découpées en fragments de 1 à 2 cm de longueur.
  - Ceux-ci sont broyés 2 fois 10 secondes dans environ 150 ml d'eau.
  - Le tout est filtré sur une colonne de tamis (toile métallique) de mailles 250, 80, 50, et 32  $\mu\text{m}$ .
  - Le contenu des trois derniers tamis est récupéré dans un tube de centrifugation (200 ml) par lavage de ces tamis.
  - On y ajoute environ 10 g de kaolin.
  - Le tout est homogénéisé avant d'être centrifugé 5 minutes à 3000 tours/mn.
- le kaolin permet d'obtenir un culot solide contenant les nématodes.
- Le surnageant, et les débris végétaux sont éliminés.
  - Le culot est remis en suspension, dans une solution de sulfate de magnésium de densité 1,15. Celle-ci, est supérieure à la densité apparente des nématodes, voisine de 1,10.
  - Le tout est à nouveau centrifugé.
  - Les nématodes contenus dans le surnageant, sont retenus sur un tamis de maille 5  $\mu\text{m}$ .
  - Ils sont récupérés par lavage de la toile avant d'être dénombrés sur cellule de comptage.

Cette méthode est aussi utilisée pour extraire les nématodes des disques de carotte et des racines de maïs.

## Annexe 5

### Elevage axénique de *Pratylenchus brachyurus* sur racines de maïs excisées

#### Préparation du milieu :

- Du milieu de Murashige et Skoog (+ 1 p.cent d'agar-agar + 2 p.cent de sacharose; pH 6,5) est coulé dans des boîtes de Petri (9 cm de diamètre).

#### Préparation des semences (origine : service Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A. de Montpellier) :

Les semences sont :

- rincées dans l'alcool à 95°, puis
- immergées 30 mn dans une solution de chlorure mercurique de 100 ppm,
- rincées 10 fois dans de l'eau distillée stérile, et
- déposées sur le milieu gélosé (1 semence par boîte).

#### Inoculation :

Les nématodes désinfectés suivant la méthode décrite en annexe 3, sont déposés sur les racines.